

ИНГИБИТОРЫ ЛИПОКСИГЕНАЗ ПОДАВЛЯЮТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ТРИФЛУОПЕРАЗИНОМ В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ КРЫСЫ

Миленина Л.С.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹, Симонян А.О.¹.

¹ Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, РФ
e-mail: l.milenina@spbu.ru, z.krutetskaya@spbu.ru

² Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова
ул. Академика Лебедева, 6, г. Санкт-Петербург, 194044, РФ

Поступила в редакцию: 23.06.2021

Аннотация. Нейролептик первого поколения трифлуоперазин (ТФП), широко применяемый в терапии шизофрении и других психических заболеваний, оказывает многогранное влияние на внутриклеточные процессы. Так, ранее нами было показано, что ТФП вызывает увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, в перитонеальных макрофагах крыс, связанное с мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо и последующим депозависимым входом Ca^{2+} из наружной среды. Однако, механизмы, посредством которых ТФП вызывает Ca^{2+} -ответы в макрофагах, до конца не изучены. В активации и функционировании иммунных клеток, в том числе макрофагов, важную роль играет каскад метаболизма полиненасыщенной арахидоновой кислоты. В макрофагах арахидоновая кислота окисляется преимущественно с участием циклооксигеназ и липоксигеназ. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать участие липоксигеназного пути окисления арахидоновой кислоты во влиянии нейролептика фенотиазинового ряда ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах. С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM обнаружено, что селективные блокаторы 5-липоксигеназ (каффеиновая кислота и zileuton) и 12-липоксигеназ (байкалейн) значительно подавляют Ca^{2+} -ответы, вызываемые ТФП в перитонеальных макрофагах крысы. Нордигидрогуаретиковая кислота, ингибирующая все изоформы липоксигеназ, практически полностью подавляет вызываемые ТФП Ca^{2+} -ответы. Полученные данные свидетельствуют об участии липоксигеназ и (или) продуктов липоксигеназного пути окисления арахидоновой кислоты во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах. Участие ферментов каскада метаболизма арахидоновой кислоты во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ может быть объяснено моделью встраивания амфифильных антипсихотических агентов, в том числе фенотиазиновых нейролептиков, во внутренний монослой мембраны, в котором локализованы анионные фосфолипиды. Это может приводить к изменению жидкости мембраны и функционирования мембраносвязанных ферментов, таких как фосфолипаза A_2 , запускающая каскад метаболизма арахидоновой кислоты. В свою очередь, ферменты и/или продукты метаболизма арахидоновой кислоты участвуют в формировании Ca^{2+} -ответов, вызываемых ТФП

Ключевые слова: трифлуоперазин, липоксигеназы, внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , перитонеальные макрофаги.

ВВЕДЕНИЕ

Трифлуоперазин (трифтазин, стелазин, ТФП) относится к первому поколению типичных нейролептиков (антипсихотических агентов) фенотиазинового ряда, широко применяемых в терапии шизофрении и других психических заболеваний [1]. Выявлено многогранное влияние ТФП на внутриклеточные процессы [2].

Множественность эффектов ТФП, как и других фенотиазинов, может быть связана с его амфифильной природой. Будучи амфифильным соединением, он хорошо проникает через мембраны. Предложен механизм встраивания (intercalation mechanism) амфифильных антипсихотических агентов, в том числе фенотиазиновых нейролептиков, во внутренний монослой мембраны, в котором локализованы анионные фосфолипиды, в первую очередь фосфоинозитиды [3]. Благодаря этому, ТФП может модулировать внутриклеточные процессы, такие как передача сигналов и внутриклеточный транспорт.

Ранее нами было впервые показано, что ТФП и другой нейролептик фенотиазинового ряда – хлорпромазин - увеличивают внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, вызывая мобилизацию Ca^{2+} из Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы [4-6]. Однако механизмы, посредством которых фенотиазины вызывают увеличение $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах, до конца не изучены.

В активации и функционировании иммунных клеток, в том числе макрофагов, важную роль играет каскад метаболизма полиненасыщенной арахидоновой кислоты (АК) [7]. АК высвобождается из мембранных липидов под действием фосфолипазы A_2 (ФЛА₂) и далее окисляется в клетке по трём основным ферментативным путям с образованием биологически активных продуктов – эйкозаноидов [7]. В макрофагах АК окисляется преимущественно с участием циклооксигеназ и липоксигеназ [8]. На тромбоцитах человека было ранее установлено, что психотропные соединения могут модулировать активность ФЛА₂ и продукцию метаболитов циклооксигеназного и липоксигеназного путей окисления АК [9, 10].

Основной изоформой липоксигеназ, экспрессированной в макрофагах и других иммунных клетках, является 5-липоксигеназа, которая окисляет АК с образованием лейкотриенов – ключевых медиаторов, участвующих в запуске и развитии воспалительных и аллергических реакций [11]. Важную роль в макрофагах играют также 12/15-липоксигеназы, продукты которых (в том числе липоксин А4), напротив, выполняют противовоспалительную и цитопротекторную функцию [12].

Поскольку запуск липоксигеназного пути окисления АК играет важную роль в активации макрофагов, представлялось целесообразным исследовать возможное участие липоксигеназного пути метаболизма АК во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar при комнатной температуре 20–22°C через 1–2 сут после начала культивирования клеток. Подробно процедура культивирования макрофагов и автоматизированная установка для измерения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия) описаны нами ранее [5]. Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Возбуждение флуоресценции объекта производили при длинах волн 340 и 380 нм, эмиссию регистрировали при длине волны 510 нм. Для избежания фотоблеширования измерения проводили через каждые 20 с, облучая объект в течение 2 с. Значения $[Ca^{2+}]_i$ рассчитывали по уравнению Гринкевича [13]. Статистический анализ проводили с применением критерия t Стьюдента. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

На рисунках приведены результаты типичных экспериментов. Данные представлены в виде графика изменения отношения интенсивностей флуоресценции Fura-2AM при длинах волн возбуждающего излучения 340 и 380 нм (отношение F_{340}/F_{380}) во времени, отражающего динамику изменения $[Ca^{2+}]_i$ в клетках в зависимости от времени измерения [14].

Для выявления участия липоксигеназного пути окисления АК во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах использовали селективные ингибиторы 5-липоксигеназ кофеиновую (3,4-дигидроксициннамовую) кислоту [15] и противоастматический агент zileuton (N-[1-(1-бензотиен-2-ил)этил]-N-гидроксимочевина, Zyflo®) [16], селективный ингибитор 12/15-липоксигеназ флавоноид байкалейн [17], а также неселективный ингибитор всех изоформ липоксигеназ (5-, 12- и 15-липоксигеназ) нордигидрогуаретиковую кислоту [7, 18].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольных экспериментах мы обнаружили, что добавление 4 мкг/мл ТФП к макрофагам, находящимся в нормальном физиологическом растворе, приводит к быстрому повышению $[Ca^{2+}]_i$ от базального уровня, равного 92 ± 17 нМ, до 221 ± 25 нМ ($n=14$), после чего наблюдается длительная фаза «плато» Ca^{2+} -ответа (рисунки 1а, 2а), отражающая депозависимый вход Ca^{2+} в клетки.

Показано, что преинкубация макрофагов с 10 мкМ кофеиновой кислоты в течение 5 мин до введения 4 мкг/мл ТФП приводит к существенному (на $61,4 \pm 14,2$ %, $n=7$) подавлению Ca^{2+} -ответов, вызываемых ТФП (рисунок 1 б). Аналогичные результаты были получены при использовании 2 мкМ zileutona (рисунок 1 в) или 10 мкМ байкалейна (рис. 1 г). Подавление Ca^{2+} -ответов, вызываемых ТФП, при воздействии zileutona составило $34,6 \pm 10,5$ % ($n=7$), а при воздействии байкалейна – $58,8 \pm 7,6$ % ($n=6$).

Обнаружено также, что введение 20 мкМ кофеиновой кислоты (рис. 1 а), 4 мкМ zileutona или 20 мкМ байкалейна (не показано) на фоне развившегося плато Ca^{2+} -ответа, индуцированного ТФП, вызывает уменьшение $[Ca^{2+}]_i$ на $46,3 \pm 12,4$, $33,5 \pm 8,2$ или $52,9 \pm 3,0$ % соответственно ($n=7$ для каждого из агентов).

Представлялось интересным исследовать влияние на Ca^{2+} -ответы, вызываемые ТФП, нордигидрогуаретиковой кислоты, которая ингибирует все изоформы липоксигеназ (5-, 12- и 15-липоксигеназы). Показано, что введение 30 мкМ нордигидрогуаретиковой кислоты (рисунок 2 а) на фоне развившегося плато Ca^{2+} -ответа, индуцированного ТФП, приводит к практически полному (на $76,9 \pm 8,9$ %, $n=7$) подавлению фазы плато и возвращению $[Ca^{2+}]_i$ к базальному уровню. Обнаружено также, что преинкубация макрофагов с 20 мкМ нордигидрогуаретиковой кислоты в течение 5 мин до введения 4 мкг/мл ТФП приводит к полному подавлению фазы плато Ca^{2+} -ответа, обусловленной депозависимым входом Ca^{2+} из наружной среды, и уменьшению (на $58,9 \pm 8,0$ %, $n=7$) амплитуды пика Ca^{2+} -ответа, отражающего мобилизацию Ca^{2+} из депо (рис. 2 б). Это согласуется с полученными ранее данными о том, что нордигидрогуаретиковая кислота в концентрации 20–50 мкМ предотвращает активацию депозависимого входа Ca^{2+} в лейкоцитарных базофилах крысы линии RBL-1 [19].

Полученные нами результаты свидетельствуют об участии 5- и 12/15- липоксигеназ и/или продуктов окисления АК с участием этих ферментов во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

Участие ферментов каскада метаболизма АК во влиянии ТФП на $[Ca^{2+}]_i$ может быть объяснено моделью встраивания (intercalation mechanism) амфифильных антипсихотических агентов, в том числе фенотиазиновых нейролептиков, во внутренний монослой мембраны, в котором локализованы анионные фосфолипиды. Трициклическое гидрофобное кольцо молекулы ТФП встраивается в гидрофобную фазу мембраны, в то время как алкильный фрагмент с терминальной аминогруппой взаимодействует с полярными головками кислот

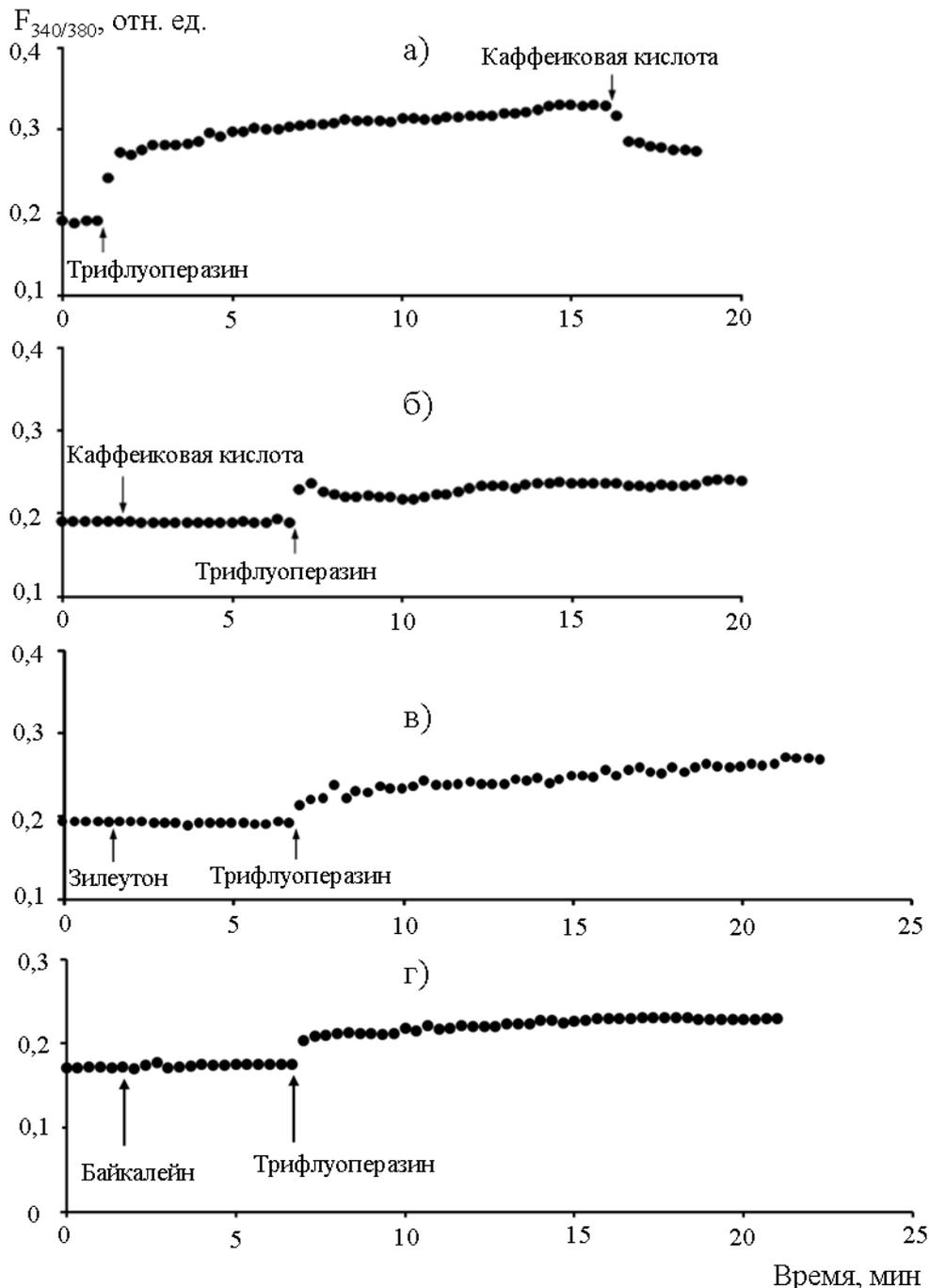


Рисунок 1. Влияние ингибиторов липоксигеназ на Ca^{2+} -ответы, вызываемые трифлуоперазином в перитонеальных макрофагах крысы. Здесь и на рисунке 2 по оси ординат – отношение интенсивностей флуоресценции F_{340}/F_{380} при длинах волн возбуждающего излучения 340 и 380 нм соответственно (относительные единицы, отн. ед.). По оси абсцисс – время. а – к макрофагам, находящимся в нормальном физиологическом растворе, добавляли 4 мкг/мл трифлуоперазина; на фоне развившегося Ca^{2+} -ответа вводили 20 мкМ кофеиновой кислоты. б, в, г – макрофаги, находящиеся в нормальном физиологическом растворе, инкубировали в течение 5 мин с 10 мкМ кофеиновой кислоты (б), 2 мкМ зилеутона (в) или 10 мкМ байкалейна (г), затем добавляли 4 мкг/мл трифлуоперазина. Каждая регистрация получена для группы из 40-50 клеток и представляет собой типичный вариант из 7 независимых экспериментов

липидов [3,20]. Это может приводить к изменению жидкости мембраны и функционирования мембраносвязанных ферментов, таких как фосфолипаза A_2 , запускающая каскад метаболизма АК. В свою очередь, ферменты и/или продукты метаболизма АК участвуют в формировании Ca^{2+} -ответов, вызываемых ТФП.

В настоящее время многие фармакологические агенты, ингибирующие метаболизм АК, активно используются в медицине в терапии целого ряда воспалительных, аллергических и инфекционных заболеваний [21]. Так, давно известно, что продукты 5-липоксигеназного пути окисления АК (лейкотриены) играют важную роль в патогенезе бронхиальной астмы [22]. Первым специфическим ингибитором 5-липоксигеназ,

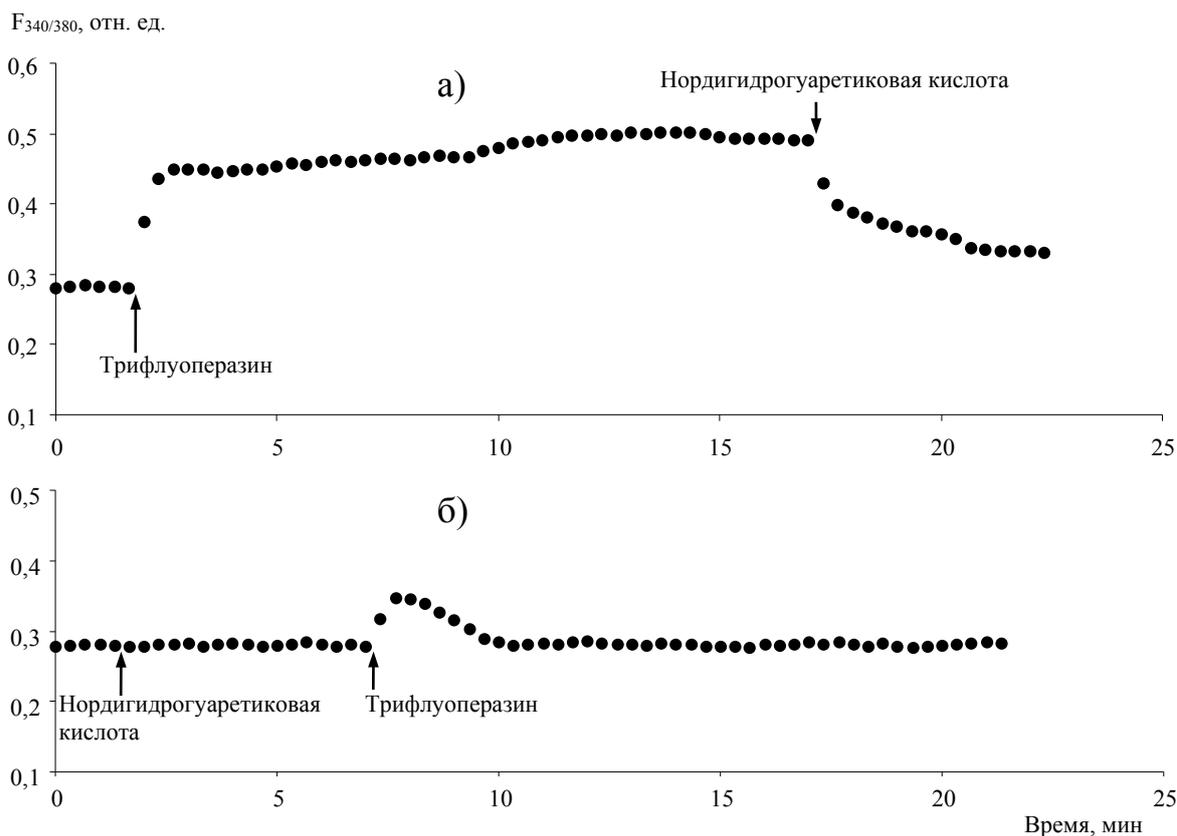


Рисунок 2. Влияние нордигидрогуаретиковой кислоты на Ca^{2+} -ответы, индуцируемые трифлуоперазином в макрофагах а – к макрофагам, находящимся в нормальном физиологическом растворе, добавляли 4 мкг/мл трифлуоперазина. На фоне развившегося Ca^{2+} -ответа вводили 30 мкМ нордигидрогуаретиковой кислоты; б – клетки инкубировали с 20 мкМ нордигидрогуаретиковой кислоты в течение 5 мин до введения 4 мкг/мл трифлуоперазина

используемым для терапии хронической астмы, был препарат zileuton (N-[1-(1-бензотиен-2-ил)этил]-N-гидроксимочевина, Zylflo®) [16]. Зилеутон уменьшает образование сульфидопептидных лейкотриенов и лейкотриена B_4 , оказывает бронхорасширяющее действие и предупреждает развитие спазма бронхов, вызванного холодным воздухом и аспирином [23]. Кроме того, существуют данные об эффективности этого антилейкотриенового препарата в лечении угревой болезни (акне) [24].

Другие ингибиторы липоксигеназ нордигидрогуаретиковая кислота, каффеиковая кислота и байкалейн также являются фармакологическими агентами, перспективными для использования в медицине. В настоящее время активно исследуются их противовоспалительный, противоопухолевый и антиоксидантный эффекты [25-27]. Полученные нами результаты о подавлении ингибиторами липоксигеназ Ca^{2+} -ответов, вызываемых ТФП в макрофагах, свидетельствуют о нежелательности совместного клинического применения противоастматического агента зилеутона, каффеиковой кислоты, нордигидрогуаретиковой кислоты или байкалейна с нейролептиком трифлуоперазином

Список литературы / References:

1. Dilsaver S.C. Antipsychotic agents: a review. *Am. Fam. Phys.*, 1993, vol. 47, pp. 199-204.
2. Sudeshna G., Parimal K. Multiple non-psychiatric effects of phenothiazines: a review. *Europ. J. Pharmacol.*, 2010, vol. 648, pp. 6-14. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.08.045
3. Oruch R., Lund A., Pryme I.F., Holmsen H. An intercalation mechanism as a mode of action exerted by psychotropic drugs: results of altered phospholipid substrate availabilities in membranes? *J. Chem. Biol.*, 2010, vol. 3, pp. 67-88. DOI: 10.1007/s12154-009-0034-6
4. Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Крутецкая Н.И., Бутов С.Н., Антонов В.Г. Влияние трифлуоперазина на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. В сб.: «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация», Пушкино, 2017, т. 1, 451 с., с. 188-192. [Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A., Krutetskaya N.I., Butov S.N., Antonov V.G. The effect of trifluoperazine on intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. In: *Receptors and Intracellular Signaling*, Pushchino, 2017, vol. 1, 451 p., pp. 188-192. (In Russ.)]
5. Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. Ингибиторы метаболизма арахидоновой кислоты подавляют Ca^{2+} -ответы, вызываемые трифлуоперазином, в макрофагах.

Цитология, 2018, т. 60, № 2, с. 116-121. [Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A., Butov S.N., Krutetskaya N.I., Antonov V.G. Arachidonic acid metabolism inhibitors attenuate Ca^{2+} responses induced by trifluoperazine in macrophages. *Cell Tissue Biol.*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 315-322. (In Russ.)]

6. Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д. Влияние хлорпромазина на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах. *Докл. Акад. Наук*, 2017, т. 474, № 1, с. 116-118. [Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D. The effect of chlorpromazine on intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages. *Dokl. Bioch. Biophys.*, 2017, vol. 474, pp. 162-164. (In Russ.)]

7. Needleman P., Turk J., Jacksick B.A., Morrison A.R., Lefkowitz J.B. Arachidonic acid metabolism. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, vol. 55, pp. 69-102.

8. Brown G.P., Monick M.M., Hunninghake G.W. Human alveolar macrophage arachidonic acid metabolism. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 1988, vol. 254, pp. C809-C815.

9. Walenga R.W., Opas E.E., Feinstein M. B. Differential effects of calmodulin antagonists on phospholipases A_2 and C in thrombin-stimulated platelets. *J. Biol. Chem.*, 1981, vol. 256, pp. 12523-12528.

10. Oruch R., Pryme I.F., Holmsen H. Effects of psychotropic drugs on the thrombin-induced liberation of arachidonate in human platelets. *Saudi Med. J.*, 2008, vol. 29, pp. 1397-1407.

11. Kuhn H., Banthiya S., van Leyen K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, vol. 1851, pp. 308-330. DOI: 10.1016/j.bbali.2014.10.002.

12. Krönke G., Katzenbeisser J., Uderhardt S., Zaiss M.M., Scholtyssek C., Schabbauer G., Zarbock A., Koenders C., Axmann R., Zwerina J., Baenckler H.W., van den Berg W., Voll R.E., Kuhn H., Joosten L.A.B., Schett G. 12/15-Lipoxygenase counteracts inflammation and tissue damage in arthritis. *J. Immunol.*, 2009, vol. 183, pp. 3383-3389. DOI: 10.4049/jimmunol.0900327

13. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.*, 1985, vol. 260, pp. 3440-3450.

14. Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J.A. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitative calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 16559-16566, DOI: 10.1074/jbc.M109518200

15. Chung T.-W., Moon S.-K., Chang Y.-C., Ko J.-H., Lee Y.-C., Cho G., Kim S.-H., Kim J.-G., Kim C.-H. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *J. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.*, 2004, vol. 18, pp. 1670-1681. DOI: 10.1096/fj.04-2126com

16. Wenzel S. E., Kamada A. K. Zileuton – the first 5-lipoxygenase inhibitor for the treatment of asthma. *Ann. Pharmacother.*, 1996, vol. 30, pp. 858-864. DOI: 10.1177/106002809603000725

17. Van Leyen K., Kim H.Y., Lee S.-R., Jin G., Arai K., Lo E.H. Baicalein and 12/15-lipoxygenase in the ischemic brain. *Stroke*, 2006, vol. 37, pp. 3014-3018. DOI: 10.1161/01.STR.0000249004.25444.a5

18. Salary H., Braquet P., Borgeat P. Comparative effects of indomethacin, acetylenic acids, 15-HETE, nordihydroguaiaretic acid and BW755C on the metabolism of arachidonic acid in human leukocytes and platelets. *Prostaglandins and Leukotrienes, and Medicine*, 1984, vol. 13, pp. 53-60. DOI: 10.1016/0262-1746(84)90102-1

19. Glitsch M.D., Bakowski D., Parekh A.B. Effects of inhibitors of the lipo-oxygenase family of enzymes on the store-operated calcium current I_{CRAC} in rat basophilic leukaemia cells. *J. Physiol.*, 2002, vol. 539.1, pp. 93-106. DOI: 10.1013/jphysiol.2001.012826

20. Jaszczyszyn A., Gasiorowski K., Swiatek P., Malinka W., Cieslik-Boczula K., Petrus J., Czarnik-Matusiewicz B. Chemical structure of phenothiazines and their biological activity. *Pharmacol. Rep.*, 2012, vol. 64, pp. 16-23.

21. Khanapure S.P., Garvey D.S., Janero D.R., Letts G.L. Eicosanoids in inflammation: biosynthesis, pharmacology, and therapeutic frontiers. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007, vol. 7, pp. 311-340. DOI: 10.2174/156802607779941314

22. Montuschi P. Role of leukotrienes and leukotriene modifiers in asthma. *Pharmaceuticals*, 2010, vol. 3, pp. 1792-1811. DOI: 10.3390/ph3061792

23. Berger W., De Chandt M.T.M., Cairns C.B. Zileuton: clinical implications of 5-Lipoxygenase inhibition in severe airway disease. *Int. J. Clin. Pract.*, 2007, vol. 61, pp. 663-676. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01320.x

24. Zouboulis C.C. Zileuton, a new efficient and safe systemic anti-acne drug. *Dermato-Endocrinol.*, 2009, vol. 1, pp. 188-192. DOI: 10.4161/derm.1.3.8368

25. Manda G., Rojo A.I., Martínez-Klimova E., Pedraza-Chaverri J., Cuadrado A. Nordihydroguaiaretic acid: from herbal medicine to clinical development for cancer and chronic diseases. *Front. Pharmacol.*, 2020, vol. 11, 151. DOI: 10.3389/fphar.2020.00151

26. Donald G., Kathleen Hertzler K., Eibl G. Baicalein – an intriguing therapeutic phytochemical in pancreatic cancer. *Curr Drug Targets*, 2012, vol. 13, pp. 1772-1776. DOI: 10.2174/138945012804545470

27. Espindola K.M.M., Ferreira G.R., Narvaez L.E.M., Rosario A.C.R.S., da Silva A.H.M., Silva A.G.B., Vieira A.P.O., Monteiro M.C. Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. *Front. Oncol.*, 2019, vol. 9, 541. DOI: 10.3389/fonc.2019.00541

LIPOXYGENASE INHIBITORS ATTENUATE Ca^{2+} RESPONSES INDUCED BY TRIFLUOPERAZINE IN PERITONEAL MACROPHAGES**Milenina L.S.¹, Krutetskaya Z.I.¹, Antonov V.G.², Krutetskaya N.I.¹, Badulina V.I.¹, Simonyan A.O.¹**¹ Saint-Petersburg State University*Universitetskaya emb., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia; e-mail: l.milenina@spbu.ru, z.krutetskaya@spbu.ru*² S.M. Kirov Military Medical Academy*ul. Akademika Lebedeva 6, Saint-Petersburg, 194044, Russia*

Abstract. Trifluoperazine (TFP) belongs to the first antipsychotics generation widely used in treatment of mental diseases. A multifaceted influence of TFP on intracellular processes has been revealed. Earlier we have shown that TFP increases intracellular Ca^{2+} concentration, $[Ca^{2+}]_i$, causing Ca^{2+} mobilization from intracellular Ca^{2+} stores and subsequent store-dependent Ca^{2+} entry from external medium, in rat peritoneal macrophages. However, the mechanisms by which TFP causes Ca^{2+} responses are not fully understood. In activation and functioning of immune cells, including macrophages, the arachidonic acid metabolism cascade plays an important role. In macrophages arachidonic acid is oxidized predominantly by cyclooxygenases and lipoxygenases. Therefore, it was useful to investigate the involvement of lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism in TFP effect on $[Ca^{2+}]_i$ in macrophages. Using Fura-2AM microfluorimetry, we have found that selective blockers of 5-lipoxygenases (caffeic acid and zileuton) and 12-lipoxygenases (baicalein) significantly suppress TFP-induced Ca^{2+} responses in rat peritoneal macrophages. Nordihydroguaretic acid, which inhibits all isoforms of lipoxygenases, almost completely suppresses TFP-induced Ca^{2+} responses. The data obtained suggest the involvement of lipoxygenases and (or) lipoxygenase pathway products in TFP effect on $[Ca^{2+}]_i$ in macrophages. The participation of arachidonic acid cascade enzymes in TFP effect on $[Ca^{2+}]_i$ can be explained by the model of embedding of amphiphilic antipsychotic agents, including phenothiazine neuroleptics, in the membrane inner monolayer. This can lead to a change in membrane fluidity and functioning of membrane-bound enzymes, such as phospholipase A_2 , which triggers arachidonic acid cascade. In turn, the enzymes and/or products of arachidonic acid metabolism are involved in the formation of TFP-induced Ca^{2+} responses.

Key words: *trifluoperazine, lipoxygenases, intracellular Ca^{2+} concentration, peritoneal macrophages.*