

АНТАГОНИСТ РЕЦЕПТОРОВ СИГМА-1, СОЕДИНЕНИЕ BD-1063, ПОДАВЛЯЕТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ МОЛИКСАНОМ В МАКРОФАГАХ

Миленина Л.С.¹, Крутецкая З.И.¹, Антонов В.Г.², Крутецкая Н.И.¹, Бадюлина В.И.¹,
Симомян 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 Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

ул. Литовская, 2, г. Санкт-Петербург, 194100, РФ

Поступила в редакцию 30.06.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0588

Аннотация. Рецепторы сигма-1 – повсеместные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны в мембране эндоплазматического ретикулума, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологический профиль. Выполняя функции шаперонов, рецепторы сигма-1 модулируют широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии, включая процессы Ca^{2+} -сигнализации. Фармакологический аналог окисленного глутатиона препарат моликсан® используется как иммуномодулятор и цитопротектор в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний; эффективен в профилактике и лечении коронавирусной инфекции COVID-19. Для выявления участия рецепторов сигма-1 во влиянии моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах и в регуляции процессов Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах в целом, исследовали влияние избирательного антагониста рецепторов сигма-1, соединения BD-1063, на Ca^{2+} -ответы, вызываемые моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM впервые показано, что соединение BD-1063 значительно подавляет мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в клетки, индуцируемые моликсаном в перитонеальных макрофагах. Полученные данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, вызываемом моликсаном и приводящем к увеличению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в макрофагах, а также об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах.

Ключевые слова: соединение BD-1063, рецепторы сигма-1, внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , макрофаги.

ВВЕДЕНИЕ

Рецепторы сигма-1 представляют собой уникальные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны, локализованные в мембране эндоплазматического ретикулума, на границе с митохондриями (МММ – mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane) [1-5]. Они могут также транслоцироваться к плазмалемме и взаимодействовать с другими рецепторами и ионными каналами; встречаются и в ядерной оболочке, где участвуют в регуляции транскрипции [2]. Эти рецепторы экспрессированы в клетках различных типов, включая иммунные [3,5-7]. Рецепторы сигма-1 имеют очень широкий фармакологический профиль. Их лигандами являются различные по химической структуре и фармакологическому действию соединения: антидепрессанты (флувоксамин, сертралин, имипрамин), нейролептики (галоперидол, хлорпромазин, трифлуоперазин), анальгетики (пентазоцин), анксиолитики (афобазол), противосудорожные (фенитоин), противокашлевые (декстрометорфан, карбетапентан) и антигистаминные (хлорфенамин) препараты, наркотические средства (метамфетамин и кокаин) и препараты, применяемые при лечении нейродегенеративных заболеваний (амантадин, мемантин, донепезил) [8-10].

Выполняя функции шаперонов, рецепторы сигма-1 взаимодействуют с белками-мишенями (ионными каналами, рецепторами в плазмалемме и др.) и модулируют многие клеточные процессы, включая процессы Ca^{2+} -сигнализации [2,4,5,11,12]. В плазмалемме они взаимодействуют с потенциалзависимыми Ca^{2+} -, Na^{+} - и K^{+} -каналами, протон-активируемыми ионными каналами (ASICs), Ca^{2+} -проницаемыми каналами TRPA1, TRPV1 и TRPM8, NMDA-рецепторами, рецепторами, связанными с G-белками (мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами, μ -опиоидными и D1- и D2-дофаминовыми рецепторами), рецепторными тирозинкиназами и другими белками-мишенями [2,4-6,13-15]. В мембране эндоплазматического ретикулума рецептор сигма-1 взаимодействует с рецептором инозитол-1,4,5-трифосфата 3-го типа, с другим молекулярным шапероном белком BiP (binding immunoglobulin protein) [16] и Ca^{2+} -сенсором белком STIM1 [17]. Обнаружено, что, взаимодействуя с рецепторами инозитол-1,4,5-трифосфата, рецепторы сигма-1 модулируют процессы Ca^{2+} -сигнализации в клетках: мобилизацию Ca^{2+} из депо [18] и вход Ca^{2+} из наружной среды [11,12,19]. Выявлено их участие в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в клетках [17,20,21].

Фармакологический аналог окисленного глутатиона препарат моликсан® («ФАРМА-ВАМ», Санкт-Петербург) используется как иммуномодулятор и цитопротектор в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний [22,23]. Клинические исследования показали, что моликсан эффективен в профилактике и лечении коронавирусной инфекции COVID-19. Приводит к более быстрому регрессу тяжести

заболевания в более легкую форму [24]. Ранее нами было впервые показано, что моликсан увеличивает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызывая мобилизацию Ca^{2+} из тапсигаргинчувствительных Ca^{2+} -депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} в перитонеальные макрофаги крысы [25]. Для выявления участия рецепторов сигма-1 во влиянии моликсана на $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в макрофагах и в регуляции процессов Ca^{2+} сигнализации в макрофагах в целом, исследовали влияние лиганда рецепторов сигма-1, соединения BD-1063, на Ca^{2+} -ответы, вызываемые моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. Соединение BD-1063 - 1-[2-(3,4-дихлорофенил)этил]-4-метилпиперазин дигидрохлорид – является эффективным и избирательным антагонистом рецепторов сигма-1 [26].

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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ на базе флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия) описаны нами ранее [27]. Для измерения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 фотоблещения измерения проводили через каждые 20 с, облучая объект в течение 2 с. Значения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ рассчитывали по уравнению Гринкевича [28]. Статистический анализ проводили с применением критерия t Стьюдента. Достоверными считали различия при $P \leq 0,05$. На рисунке 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в клетках в зависимости от времени измерения [29,30].

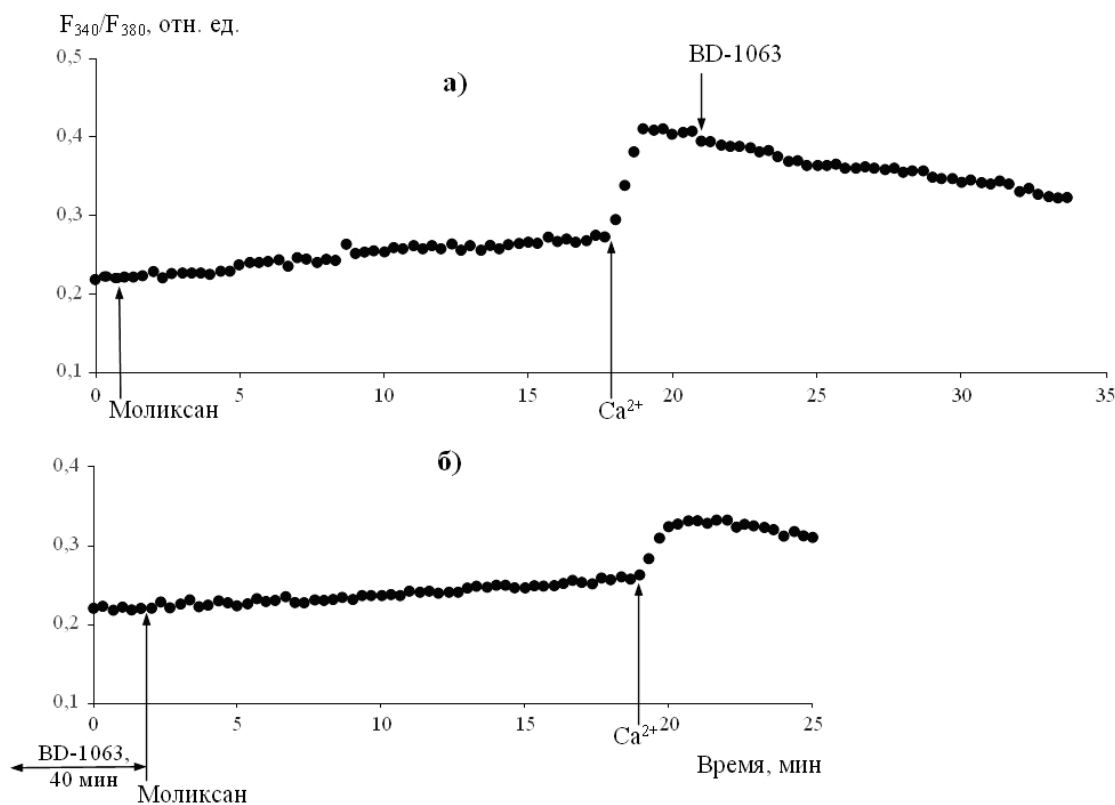


Рисунок 1. Влияние соединения BD-1063 на увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$, вызываемое моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. По оси ординат – отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2AM F_{340}/F_{380} при длинах волн возбуждающего излучения 340 и 380 нм соответственно (относительные единицы, отн. ед.). По оси абсцисс – время (мин). *а* – клетки инкубировали в течение 17 мин в присутствии 100 мкг/мл моликсана в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca^{2+} инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} ; на фоне развившегося входа Ca^{2+} добавляли 60 мкМ BD-1063; *б* – макрофаги предварительно инкубировали в течение 40 мин с 60 мкМ BD-1063 в бескальциевой среде, затем добавляли 100 мкг/мл моликсана, через 17 мин вход Ca^{2+} инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} . Каждая регистрация получена для группы из 40-50 клеток и представляет собой типичный вариант из 6-8 независимых экспериментов

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольных экспериментах было показано, что инкубация макрофагов в течение 17 мин со 100 мкг/мл моликсана (рис. 1а) в бескальциевой среде вызывает медленно нарастающее увеличение $[Ca^{2+}]_i$, отражающее мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо. Через 17 мин после добавления моликсана $[Ca^{2+}]_i$ в среднем увеличивалась от базального уровня, равного 92 ± 10 нМ, до 134 ± 14 нМ ($n = 6$; $P < 0,05$). При введении в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} наблюдали дальнейшее повышение $[Ca^{2+}]_i$, отражающее депозависимый вход Ca^{2+} в цитозоль (рис. 1а). В среднем увеличение $[Ca^{2+}]_i$ во время входа Ca^{2+} составило 241 ± 21 нМ ($n = 6$; $P < 0,05$).

Впервые обнаружено, что антагонист рецепторов сигма-1, соединение BD-1063, подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых моликсаном в перитонеальных макрофагах. Показано, что предварительная инкубация макрофагов с 60 мкМ BD-1063 в течение 40 мин до введения 100 мкг/мл моликсана приводит к значительному подавлению как мобилизации Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо (на $50,8 \pm 9,3\%$, $n = 7$; $P < 0,05$), так и последующего депозависимого входа Ca^{2+} в клетки (на $54,0 \pm 10,1\%$, $n = 7$; $P < 0,05$), индуцируемых моликсаном (рис. 1б). Это свидетельствует об участии рецепторов сигма-1 в активации депозависимого входа Ca^{2+} , индуцируемого моликсаном, в макрофагах.

Кроме того, нами было выявлено, что добавление 60 мкМ BD-1063 на фоне развившегося входа Ca^{2+} , индуцированного моликсаном, вызывает значительное (на $63,1 \pm 8,5\%$, $n = 12$; $P < 0,05$) подавление депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги (рис. 1а). Это свидетельствует об участии рецепторов сигма-1 не только в активации, но и в поддержании депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги.

Таким образом, в настоящей работе мы впервые на перитонеальных макрофагах крысы показали, что избирательный антагонист рецепторов сигма-1, соединение BD1063, значительно подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых моликсаном в перитонеальных макрофагах. Это подтверждает полученные нами ранее данные о том, что антагонисты рецепторов сигма-1, типичные нейролептики галоперидол, хлорпромазин и трифлуоперазин, ингибируют Ca^{2+} -ответы, индуцируемые моликсаном в макрофагах [31].

Результаты также согласуются с данными исследований других авторов, которые обнаружили, что антагонисты рецепторов сигма-1 хлорпромазин и трифлуоперазин подавляют мобилизацию Ca^{2+} из депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} , вызываемые АТФ или тапсигаргином, в клетках лейкоза человека (линия HL-60) [32,33]. Показано также, что хлорпромазин ингибирует депозависимый вход Ca^{2+} , индуцируемый брадикинином или тапсигаргином в клетках феохромоцитомы крысы (линия PC12) [34], а преинкубация клеток с трифлуоперазином приводит к существенному подавлению депозависимого входа Ca^{2+} , вызываемого тапсигаргином, в клетках эмбриональной почки человека (линия HEK-293) [35]. Обнаружено также, что антагонисты сигма-1 рецепторов (соединения BD1063 и BD1047) ингибируют депозависимый вход Ca^{2+} , индуцируемый гистамином в эндотелиальных клетках подкожной вены ноги человека [36], а в клетках аденокарциномы молочной железы человека (линия MCF7) BD1063 значительно подавляет депозависимый вход Ca^{2+} , вызываемый тапсигаргином [37], и подавляет Ca^{2+} -ответы, вызываемые брадикинином [38].

Кроме того, известно, что антагонисты сигма-1 рецепторов ингибируют Ca^{2+} -проницаемые каналы суперсемейства TRP (Transient Receptor Potential channels) в клетках разных типов. Так, BD1063 и BD1047 ингибируют каналы TRPC5 и TRPM3 в эндотелиальных клетках подкожной вены ноги человека [36]. В клетках эмбриональной почки человека (линия HEK-293) соединение BD1063 подавляет активность каналов TRPV1 [13] и каналов TRPA1 [39].

Результаты настоящей работы и ранее [31] о подавлении лигандами рецепторов сигма-1 Ca^{2+} -ответов, вызываемых моликсаном в макрофагах, свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, запускаемом моликсаном и приводящем к увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в перитонеальных макрофагах крыс.

Полученные нами данные свидетельствуют также об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} , индуцируемого дисульфидсодержащими иммуномодуляторами, в перитонеальных макрофагах крыс и позволяют рассматривать рецепторы сигма-1 в качестве нового регуляторного компонента сигнального комплекса депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах. Рецепторы сигма-1 могут влиять на депозависимый вход Ca^{2+} , модулируя связывание между основными компонентами белкового комплекса депозависимого входа Ca^{2+} – белками STIM1 в мембране эндоплазматического ретикула и Orai1 в плазмалемме [17].

Кроме того, полученные результаты могут иметь значение для терапии заболеваний, опосредованных нарушением функционирования рецепторов сигма-1. Так, известно, что изменения субклеточной локализации, экспрессии и сигнальных функций рецепторов сигма-1 приводят к развитию широкого ряда заболеваний человека [3-5,40]. Выявлено участие этих рецепторов в патофизиологии нейропсихиатрических (шизофрении, тревожных расстройств, депрессивных состояний и деменции) [41-46], нейродегенеративных (болезней Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона, бокового амиотрофического склероза) [47-52], онкологических [11,53] и сердечнососудистых [5] заболеваний, болевых синдромов [54], ретинопатий [55] и COVID-19 [56]. Это позволило рассматривать рецепторы сигма-1 как перспективные фармакологические мишени для терапии этих заболеваний.

Установлено также участие рецепторов сигма-1 в возникновении и поддержании нейропатической боли [57]. В связи с этим, антагонисты сигма-1 рецепторов, включая соединение BD-1063, рассматриваются как

перспективные агенты для терапии этого болевого синдрома. Так, выявлен антигипералгезический и антиаллодинический эффекты антагониста сигма-1 рецепторов BD-1063 в модели хронического сужения седалищного нерва у крыс [58]. Обнаружено также, что антагонисты сигма-1 рецепторов BD-1063, BD-1047 и NE-100 ингибируют механическую аллодинию, вызванную капсаицином у мышей [59]. Кроме того, избирательные антагонисты BD-1063 и S1RA предотвращают или полностью обращают холодovou и механическую аллодинию, вызываемую паклитакселем у мышей [60,61].

Таким образом, полученные нами данные о подавлении избирательным антагонистом рецепторов сигма-1, соединением BD-1063, обеих фаз Ca^{2+} -ответов, индуцируемых дисульфидсодержащим иммуномодулятором моликсаном в перитонеальных макрофагах крыс, дополнительно подтверждают многогранность эффектов лигандов рецепторов сигма-1 и свидетельствуют в пользу их терапевтического потенциала.

Работа выполнена в рамках Договора СПбГУ на выполнение научно-исследовательских работ № 05/03-20 от 12.03.2020.

Список литературы / References:

1. Su T.-P., Hayashi T., Maurice T., Buch S., Ruoho A.E. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2010, vol. 31, pp. 557-566.
2. Su T.-P., Su T.-C., Nakamura Y., Tsai S.-Y. The sigma-1 receptor as a pluripotent modulator in living systems. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2016, vol. 37, no. 4, pp. 262-278.
3. Rousseaux C.G., Greene S.F. Sigma receptors [σ R]: Biology in normal and diseased states. *J. Recept. Signal Transduct. Res.*, 2016, vol. 36, no. 4, pp. 327-388.
4. Schmidt H.R., Kruse A.C. The molecular function of σ receptors: past, present, and future. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2019, vol. 40, no. 9, pp. 636-654.
5. Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M., Remex N.S., Bhuiyan M.S. Sigmar1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology. *Front. Physiol.*, 2021, vol. 12, p. 705575, doi: 10.3389/fphys.2021.705575.
6. Munguia-Galaviz F.J., Miranda-Diaz A.G., Cardenas-Sosa M.A., Echavarria R. Sigma-1 receptor signaling: In search of new therapeutic alternatives for cardiovascular and renal diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, 1997, doi: 10.3390/ijms24031997.
7. Penke B., Fulop L., Szucs M., Frecska E. The role of sigma-1 receptor, an intracellular chaperone in neurodegenerative diseases. *Curr. Neuropharmacol.*, 2018, vol. 16, pp. 97-116.
8. Cobos E.J., Entrena J.M., Nieto F.R., Cendán C.M., Del Pozo E. Pharmacology and therapeutic potential of sigma (1) receptor ligands. *Curr. Neuropharmacol.*, 2008, vol. 6, no. 4, pp. 344-366.
9. Maurice T., Su T.-P. The pharmacology of sigma-1 receptors. *Pharmacol. Ther.*, 2009, vol. 124, no. 2, pp. 195-206.
10. Chu U.B., Ruoho A.E. Biochemical pharmacology of the sigma-1 receptor. *Mol. Pharmacol.*, 2016, vol. 89, pp. 142-153.
11. Pontisso I., Combettes L. Role of sigma-1 receptor in calcium modulation: possible involvement in cancer. *Genes*, 2021, vol. 12, no. 2, p. 139, doi: 10.3390/genes12020139.
12. Shi M., Chen F., Chen Z., Yang W., Yue S., Zhang J., Chen X. Sigma-1 receptor: a potential therapeutic target for traumatic brain injury. *Front. Cell. Neurosci.*, 2021, vol. 15, p. 685201, doi: 10.3389/fncel.2021.685201.
13. Ortiz-Renteria M., Juarez-Contreras R. et al. TRPV1 channels and the progesterone receptor Sig-1R interact to regulate pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2018, vol. 115, pp. E1657-E1666, doi: 10.1073/pnas.1715972115.
14. Morales-Lázaro S.L., González-Ramírez R., Rosenbaum T. Molecular interplay between the sigma-1 receptor, steroids, and ion channels. *Front. Pharmacol.*, 2019, vol. 10, p. 419, doi: 10.3389/fphar.2019.00419.
15. Cortés-Montero E., Sánchez-Blázquez P., Onetti Y., Merlos M., Garzón J. Ligands exert biased activity to regulate sigma 1 receptor interactions with cationic TRPA1, TRPV1 and TRPM8 channels. *Front. Pharmacol.*, 2019, vol. 10, p. 634, doi: 10.3389/fphar.2019.00634.
16. Hayashi T., Su T.-P. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca^{2+} signaling and cell survival. *Cell*, 2007, vol. 131, pp. 596-610.
17. Srivats S., Balasuriya D., Pasche M., Vistal G., Edwardson J. M., Taylor C.W., Murrell-Lagnado R.D. Sigma 1 receptors inhibit store-operated Ca^{2+} entry by attenuating coupling of STIM1 to Orai1. *J. Cell Biol.*, 2016, vol. 213, no. 1, pp. 65-79.
18. Hayashi T., Maurice T., Su T.-P. Ca^{2+} signalling via σ 1-receptors: novel regulatory mechanism affecting intracellular Ca^{2+} concentration. *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 2000, vol. 293, pp. 788-798.
19. Monnet F.P. Sigma-1 receptor as regulator of neuronal intracellular Ca^{2+} : clinical and therapeutic relevance. *Biol. Cell.*, 2005, vol. 97, pp. 878-883.
20. Brailoiu G.C., Deliu E., Console-Bram L.M., Soboloff J., Abood M.E., Unterwald E.M., Brailoiu E. Cocaine inhibits store-operated Ca^{2+} entry in brain microvascular endothelial cells: Critical role for sigma-1 receptors. *Biochem. J.*, 2016, vol. 473, pp. 1-5.
21. Berlansky S., Humer C., Sallinger M., Frischauf I. More than just simple interaction between STIM and Orai proteins: CRAC channel function enabled by a network of interactions with regulatory proteins. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, p. 471, doi: 10.3390/ijms22010471.

22. Борисов А.Е., Кожемякин Л.А. и др. Клинико-экспериментальное обоснование регионарного и системного введения препаратов группы тиопозтинов при циррозе печени. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова.*, 2001, т. 4, № 2, с. 32-38 [Borisov A.E., Kozhemyakin L.A. et al. Clinical and experimental grounds of the regional and systemic administration of the thiopozetin group medicines for cirrhosis of the liver. *Vestnic hirurgii im. I.I. Grekova*, 2001, vol. 4, no. 2, pp. 32-38 (In Russ.)].
23. Толстой О.А., Цыган В.Н., Климов А.Г., Степанов А.В., Антушевич А.Е. Экспериментальная оценка эффективности препарата моликсан по восстановлению работоспособности вирусинфицированных лабораторных животных. *Известия Рос. военно-мед. акад.*, 2019, т. 38, № 1, с. 271-277 [Tolstoy O.A., Tsygan V.N., Klimov A.G., Stepanov A.V., Antushevich A.E. Experimental evaluation of the efficiency of the drug molixan on restoring the operation of virus-infected laboratory animals. *Bull. Russ. Military Med. Acad.*, 2019, vol. 38, no. 1, pp. 271-277 (In Russ.)].
24. Dubina M.V., Gomonova V.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V., Sayganov S.A. *Pathogenesis-based pre-exposure prophylaxis associated with low risk of SARS-CoV-2 infection in healthcare workers at a designated COVID-19 hospital.* 2020, doi: 10.1101/2020.09.25.20199562.
25. Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. Влияние препарата моликсан на процессы Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах. *Цитология*, 2011, т. 53, № 9, с. 708 [Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Krutetskaya N.I., Antonov V.G. The effect of drug molixan on Ca^{2+} signaling processes in macrophages. *Tsitologiya*, 2011, vol. 53, p. 708 (In Russ.)].
26. Matsumoto R.R., Bowen W.D., Tom M.A., Vo V.N., Truong D.D., De Costa B.R. Characterization of two novel sigma receptor ligands: antidystonic effects in rats suggest sigma receptor antagonism. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, vol. 280, pp. 301-310.
27. 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.)].
28. 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.
29. Bruce J.I.E., Elliott A.C. Pharmacological evaluation of the role of cytochrome P450 in intracellular calcium signaling in rat pancreatic acinar cells. *Brit. J. Physiol.*, 2000, vol. 131, pp. 761-771.
30. 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.
31. Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Антонов В.Г., Крутецкая Н.И., Бадюлина В.И., Симонян А.О. Нейролептики подавляют Ca^{2+} -ответы, вызываемые глутоксимом и моликсаном в макрофагах. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2022, т. 7, № 1, с. 127-136. [Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Antonov V.G., Krutetskaya N.I., Badulina V.I., Simonyan A.O. Neuroleptics attenuate Ca^{2+} responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. *Russ. J. Biol. Phys. Chem.*, 2022, vol. 7, no. 1, pp. 127-136. (In Russ.)]
32. Harper J.L., Shin Y., Daly J.W. Loperamide: A positive modulator for store-operated calcium channels? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1997, vol. 94, pp. 14912-14917.
33. Harper J.L., Daly J.W. Inhibitors of store-operated calcium channels: Imidazoles, phenothiazines, and other tricyclics. *Drug Dev. Res.*, 1999, vol. 47, pp. 107-117.
34. Choi S.-Y., Kim Y.-H., Lee Y.-K., Kim K.-T. Chlorpromazine inhibits store-operated calcium entry and subsequent noradrenaline secretion in PC12 cells. *British J. Pharmacol.*, 2001, vol. 132, pp. 411-418.
35. Wang L., Zhang L., Li S., Zheng Y., Yan X., Chen M., Wang H., Putney J.W., Luo D. Retrograde regulation of STIM1-Orai1 interaction and store-operated Ca^{2+} entry by calsequestrin. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, pp. 1-12.
36. Amer M.S., McKeown L. et al. Inhibition of endothelial cell Ca^{2+} entry and transient receptor potential channels by sigma-1 receptor ligands. *Br. J. Pharmacol.*, 2013, vol. 168, pp. 1445-1455.
37. Gasparre G., Abate C., Carlucci R., Berardi F., Cassano G. The σ_1 receptor agonist (+)-pentazocine increases store-operated Ca^{2+} entry in MCF7 σ_1 and SK-N-SH cell lines. *Pharmacol. Rep.*, 2017, vol. 69, pp. 542-545.
38. Wu Z., Bowen W.D. Role of sigma-1 receptor C-terminal segment in inositol 1,4,5-trisphosphate receptor activation. Constitutive enhancement of calcium signaling in MCF-7 tumor cells. *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, pp. 28198-28215.
39. Marcotti A., Fernández-Trillo J. et al. TRPA1 modulation by Sigma-1 receptor prevents oxaliplatin-induced painful peripheral neuropathy. *Brain*, 2023, vol. 146, pp. 475-491.
40. Pergolizzi J., Varrassi G., Coleman M., Frank Breve F., Christo D.K., Christo P.J., Moussa Ch. The Sigma Enigma: A narrative review of sigma receptors. *Cureus*, 2023, vol. 15, no. 3, e35756, doi: 10.7759/cureus.35756.
41. Tsai S.-Y., Hayashi T., Mori T., Su T.-P. Sigma-1 receptor chaperones and diseases. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.*, 2009, vol. 9, no. 3, pp. 184-189.
42. Tsai S.-Y., Pokrass M.J., Klauer N.R., De Credico N.E., Su T.-P. Sigma-1 receptor chaperones in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2014, vol. 18, no. 12, pp. 1461-1476.
43. Ishikawa M., Hashimoto K. The role of sigma-1 receptors in the pathophysiology of neuropsychiatric diseases. *J. Receptor, Ligand, Channel Res.*, 2010, vol. 3, pp. 25-36.

44. Hayashi T. Sigma-1 receptor: the novel intracellular target of neuropsychotherapeutic drugs. *J. Pharmacol. Sci.*, 2015, vol. 127, no. 1, pp. 2-5.
45. Salaciak K., Pytka K. Revisiting the sigma-1 receptor as a biological target to treat affective and cognitive disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2022, vol. 132, pp. 1114-1136.
46. Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Seredenin S.B. Chaperone Sigma1R and antidepressant effect. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 19, 7088, doi: 10.3390/ijms21197088.
47. Ryskamp D., Wu J., Geva M., Kusko R., Grossman I., Hayden M., Bezprozvanny I. The sigma 1 receptor mediates the beneficial effects of pridopidine in a mouse model of Huntington disease. *Neurobiol. Dis.*, 2017, vol. 97, pp. 46-59.
48. Ryskamp D.A., Korban S., Zhemkov V., Kraskovskaya N., Bezprozvanny I. Neuronal sigma-1 receptors: signaling functions and protective roles in neurodegenerative diseases. *Front. Neurosci.*, 2019, vol. 13, p. 862, doi: 10.3389/fnins.2019.00862.
49. Yang K., Wang C., Sun T. The roles of intracellular chaperone proteins, sigma receptors, in Parkinson's disease (PD) and major depressive disorder (MDD). *Front. Pharmacol.*, 2019, vol. 10, p. 528, doi: 10.3389/fphar.2019.00528.
50. Herrando-Grabulosa M., Gaja-Capdevila N., Vela J.M., Navarro X. Sigma 1 receptor as a therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis. *Br. J. Pharmacol.*, 2020, vol. 178, no. 6, pp. 1336-1352.
51. Lachance V., Belanger S.-M. et al. of Sigma-1R subcellular specific biological functions and role in neuroprotection. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, p. 1971, doi: 10.3390/ijms24031971.
52. Malar D.S., Thitilertdecha P., Ruckvongacheep K.S., Brimson S., Tencomnao T., Brimson J.M. Targeting sigma receptors for the treatment of neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *CNS Drugs*, 2023, doi: 10.1007/s40263-023-01007-6.
53. Kim F.J., Maher C.M. Sigma1 pharmacology in the context of cancer. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2017, vol. 244, pp. 237-308.
54. Merlos M., Burgueno J., Portillo-Salido E., Plata-Salaman C.R., Vela J.M. Pharmacological modulation of the sigma 1 receptor and the treatment of pain. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2017, vol. 964, pp. 85-107.
55. Smith S.B., Wang J., Cui X., Mysona B.A., Zhao J., Bollinger K.E. Sigma 1 receptor: a novel therapeutic target in retinal disease. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2018, vol. 67, pp. 130-149.
56. Vela J.M. Repurposing sigma-1 receptor ligands for COVID-19 therapy? *Front. Pharmacol.*, 2020, vol. 11, p. 582310, doi: 10.3389/fphar.2020.582310.
57. Romero L., Merlos M., Vela J.M. Antinociception by sigma-1 receptor antagonists: Central and peripheral effects. *Adv. Pharmacol.*, 2016, vol. 75, pp. 179-215.
58. Espinosa-Juarez J.V., Jaramillo-Morales O.A., Deciga-Campos M., Moreno-Rocha L.A., Lopez-Munoz F.J. Sigma-1 receptor antagonist (BD-1063) potentiates the antinociceptive effect of quercetin in neuropathic pain induced by chronic constriction injury. *Drug Dev. Res.*, 2021, vol. 82, no. 2, pp. 267-277.
59. Entrena J.M., Cobos E.J., Nieto F.R., Cendan C.M., Gris G., Del Pozo E., Zamanillo D., Baeyens J.M. Sigma-1 receptors are essential for capsaicin-induced mechanical hypersensitivity: Studies with selective sigma-1 ligands and sigma-1 knockout mice. *Pain*, 2009, vol. 143, pp. 252-261.
60. Nieto F.R., Cendan C.M. et al. Role of sigma-1 receptors in paclitaxel-induced neuropathic pain in mice. *J. Pain*, 2012, vol. 13, pp. 1107-1121.
61. Nieto F.R., Cendan C.M., Canizares F.J., Cubero M.A., Vela J.M., Fernandez-Segura E., Baeyens J.M. Genetic inactivation and pharmacological blockade of sigma-1 receptors prevent paclitaxel-induced sensory-nerve mitochondrial abnormalities and neuropathic pain in mice. *Molecular Pain*, 2014, vol. 10, p. 11.

SIGMA-1 RECEPTOR ANTAGONIST, COMPOUND BD-1063, ATTENUATES Ca²⁺ RESPONSES INDUCED BY MOLIXAN IN 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 Saint-Petersburg State Pediatric Medical University*ul. Litovskaya, 2, Saint-Petersburg, 194100, Russia*

Received 30.06.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0588

Abstract. Sigma-1 receptors are ubiquitous multifunctional ligand-operated molecular chaperones in the endoplasmic reticulum membrane with a unique history, structure, and pharmacological profile. Acting as chaperones, sigma-1 receptors modulate a wide range of cellular processes in health and disease, including Ca²⁺ signaling processes. The pharmacological analogue of oxidized glutathione, drug molixan®, is used as an immunomodulator and cytoprotector in the complex therapy of bacterial, viral and oncological diseases; effective in the prevention and treatment of coronavirus infection COVID-19. To elucidate the involvement of sigma-1 receptors in the effect of molixan on the intracellular Ca²⁺ concentration in macrophages and in the regulation of Ca²⁺ signaling processes in macrophages in general, the effect of the sigma-1 receptor selective antagonist, compound BD-1063, on Ca²⁺ responses induced by molixan in rat peritoneal macrophages was investigated. Using Fura-2AM microfluorimetry we have shown for the first time that compound BD-1063 significantly suppresses both Ca²⁺ mobilization from intracellular Ca²⁺ stores and subsequent store-dependent Ca²⁺ entry, induced by molixan in peritoneal macrophages. The data obtained indicate the involvement of sigma-1 receptors in the complex signaling cascade triggered by molixan and leading to intracellular Ca²⁺ concentration increase in macrophages. The results also suggest the involvement of sigma-1 receptors in the regulation of store-dependent Ca²⁺ entry in macrophages.

Key words: *compound BD-1063, sigma-1 receptors, intracellular Ca²⁺ concentration, macrophages.*