

ЛИГАНДЫ РЕЦЕПТОРОВ СИГМА-1 ХЛОРПРОМАЗИН И ТРИФЛУОПЕРАЗИН ПОДАВЛЯЮТ Ca^{2+} -ОТВЕТЫ В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ КРЫСЫ

© 2022 г. Л. С. Миленина¹, *, З. И. Крутецкая¹, **, В. Г. Антонов², Н. И. Крутецкая¹

¹Кафедра биофизики Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, 199034 Россия

²Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-Медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044 Россия

*E-mail: l.milenina@spbu.ru

**E-mail: z.krutetskaya@spbu.ru

Поступила в редакцию 28.09.2021 г.

После доработки 12.10.2021 г.

Принята к публикации 13.10.2021 г.

Рецепторы сигма-1 – повсеместные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны в мембране эндоплазматического ретикула, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологический профиль. Рецепторы сигма-1 связывают различные по химической структуре и фармакологическому действию лиганды и модулируют широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии, включая процессы Ca^{2+} -сигнализации. Для выявления участия рецепторов сигма-1 в процессах Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах исследовали влияние лигандов рецепторов сигма-1 нейрорепептидов фенотиазинового ряда хлорпромазина и трифлуоперазина на Ca^{2+} -ответы, вызываемые ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и циклопiazониковой кислотой, а также дисульфидсодержащими иммуномодуляторами глутоксимом и моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы. С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM впервые показано, что хлорпромазин и трифлуоперазин подавляют обе фазы Ca^{2+} -ответов, индуцируемых глутоксимом, моликсаном, тапсигаргином и циклопiazониковой кислотой в перитонеальных макрофагах крысы. Полученные данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, вызываемом глутоксимом или моликсаном и приводящем к увеличению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в макрофагах. Результаты свидетельствуют также об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в макрофагах.

Ключевые слова: трифлуоперазин, хлорпромазин, рецепторы сигма-1, перитонеальные макрофаги, внутриклеточная концентрация Ca^{2+}

DOI: 10.31857/S0041377122010072

Ион Ca^{2+} является универсальным вторичным мессенджером, действующим в клетках микроорганизмов, растений и животных (Berridge et al., 1998; Carafoli, Krebs, 2016). Изменения в транспорте и внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , $[\text{Ca}^{2+}]_i$, играют ключевую роль в запуске и регуляции общих и специализированных клеточных функций, таких как пролиферация, рост, секреция, сокращение, передача нервного импульса, иммунный ответ и т.д. (Berridge et al., 2000, 2003). В клетках иммунной системы (лимфоцитах, тучных клетках, макрофагах) ионы Ca^{2+} работают на всех стадиях жизни клетки, включая развитие, активацию, дифференцировку, продукцию цитокинов и, наконец, смерть клетки (Vig, Kinet, 2009; Trebak, Kinet, 2019).

Принятые сокращения: $[\text{Ca}^{2+}]_i$ – внутриклеточная концентрация Ca^{2+} ; ЦПК – циклопiazониксовая кислота; ТФП – трифлуоперазин; ХП – хлорпромазин.

Важными участниками процессов Ca^{2+} -сигнализации в клетках являются рецепторы сигма-1, имеющие уникальную историю, структуру, фармакологию и модулирующие широкий спектр клеточных процессов в норме и патологии (Su et al., 2010, 2016; Rousseaux, Greene, 2016; Penke et al., 2018; Schmidt, Kruse, 2019; Aishwarya et al., 2021). Международный союз общей и клинической фармакологии включил рецепторы сигма в список рецепторов только в 2013 г. как лигандрегулируемые неопиоидные внутриклеточные рецепторы (Alexander et al., 2013).

Рецепторы сигма-1 представляют собой уникальные многофункциональные лигандрегулируемые молекулярные шапероны, локализованные в мембране эндоплазматического ретикула, на границе с митохондриями (MAM – mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane) (Su et al., 2010, 2016; Rousseaux, Greene, 2016; Schmidt, Kruse, 2019; Delprat et al., 2020; Aishwarya et al., 2021). Кроме того, они могут транслицироваться к плазмалемме и взаимодействовать с

ионными каналами и другими рецепторами, а также встречаются в ядерной оболочке, где участвуют в регуляции транскрипции (Su et al., 2016). Эти рецепторы экспрессированы в клетках различных типов, включая клетки иммунной системы (Rousseaux, Greene, 2016; Penke et al., 2018; Aishwarya et al., 2021).

Рецептор сигма-1 был впервые клонирован в 1996 г. из печени морской свинки (Hanner et al., 1996) и клеток хориокарциномы плаценты человека (Kekuda et al., 1996). Оказалось, что рецептор сигма-1 представляет собой белок с молекулярной массой 25 кДа, содержащий 223 аминокислоты. Аминокислотная последовательность сигма-1-рецептора человека уникальна и не имеет гомологов среди других белков млекопитающих (Hanner et al., 1996; Ossa et al., 2017). В 2016 г. в лаборатории Крузе с использованием методов кристаллографии была впервые установлена трехмерная структура сигма-1-рецептора человека (Shmidt et al., 2016; Kruse, 2017). Обнаружено, что этот рецептор является тримером, состоящим из трех идентичных протомеров. Каждый протомер содержит один трансмембранный домен (Shmidt et al., 2016, 2018; Alon et al., 2017; Ossa et al., 2017; Shmidt, Kruse, 2019).

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, анальгетики (пентазонин), анксиолитики (афобазол), противосудорожные (фенитоин), противокашлевые (декстрометорфан, карбеттапентан) и антигистаминные (хлорфенамин) препараты, наркотические средства (метамфетамин и кокаин) и препараты, применяемые при лечении нейродегенеративных заболеваний (амантадин, мемантин, донепезил) (Cobos et al., 2008; Maurice, Su, 2009; Chu, Ruoho, 2016; Vavers et al., 2019; Voronin et al., 2020). Из общих структурных черт лигандов следует отметить катионную аминогруппу и по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Типичные нейролептики (галоперидол, флуфеназин, хлорпромазин, трифлуоперазин) имеют высокое сродство к рецепторам сигма-1 (Tam, Cook, 1984).

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 (Su et al., 2010, 2016; Schmidt, Kruse, 2019; Pontisso, Combettes, 2021). В плазмалемме они взаимодействуют с потенциалзависимыми Ca^{2+} -, Na^{+} - и K^{+} -каналами, протон-активируемыми ионными каналами (ASICs), NMDA-рецепторами, рецепторами, связанными с G-белками (мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами, μ -опиоидными и D1- и D2-дофаминовыми рецепторами) и другими белками-мишенями (Su et al., 2010, 2016; Schmidt, Kruse, 2019). В мембране эндоплазма-

тического ретикула рецептор сигма-1 взаимодействует с рецептором инозитол-1,4,5-трифосфата 3-го типа, с другим молекулярным шапероном белком BiP (binding immunoglobulin protein) (Hayashi, Su, 2007) и Ca^{2+} -сенсором белком STIM1 (Srivats et al., 2016). 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 (Hayashi et al., 2000; Wu, Bowen, 2008) и вход Ca^{2+} из наружной среды (Monnet, 2005; Hayashi, Su, 2007; Pontisso, Combettes, 2021). Выявлено их участие в регуляции депозависимого входа Ca^{2+} в клетках (Brailoiu et al., 2016; Rosado, 2016; Srivats et al., 2016; Berlansky et al., 2021).

Ранее нами было впервые показано, что антагонист рецепторов сигма-1 нейролептик галоперидол (производное бутирофенона) значительно подавляет обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых дисульфидсодержащими иммуномодуляторами глутоксимом® (динатриевая соль окисленного глутатиона с d-металлом в наноконцентрации) и моликсаном® (комплекс глутоксима и нуклеозида инозина) (Крутецкая и др., 2017) и ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и циклопязониковой кислотой (ЦПК) (Крутецкая и др., 2018б) в перитонеальных макрофагах крысы.

Для подтверждения участия рецепторов сигма-1 в регуляции процессов Ca^{2+} сигнализации в макрофагах, представлялось целесообразным исследовать влияние других, структурно отличных, лигандов рецепторов сигма-1 на Ca^{2+} -ответы, индуцируемые глутоксимом и моликсаном, а также тапсигаргином (Thastrup et al., 1989) и ЦПК (Goeger et al., 1988), в перитонеальных макрофагах крысы, что и составило предмет настоящего исследования.

В экспериментах использовали лиганды рецепторов сигма-1 хлорпромазин (ХП, аминазин, торазин) (Itzhak et al., 1990; Hayashi, Su, 2004) и трифлуоперазин (ТФП, трифтазин, стелазин) (Schuster et al., 1995; Hanner et al., 1996), относящиеся к первому поколению типичных нейролептиков (антипсихотических агентов) фенотиазинового ряда и имеющие долгую историю использования в клинике для терапии шизофрении и других психических заболеваний (Dilsaver, 1993; Ayano, 2016).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Выделение и культивирование перитонеальных макрофагов крыс. Эксперименты проводили на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar. Содержание животных и все манипуляции выполняли в соответствии с нормативными документами и требованиями Приказа Минздрава России № 267 от 19.06.03 “Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации”.

Резидентные макрофаги выделяли из перитонеальной полости крыс массой 180–250 г по традиционному методу; сразу после выделения клетки имели сферическую форму диаметром 10–20 мкм (Сопрад, 1981; Randriamampita, Trautmann, 1987). Суспензию клеток помещали в бакпечатки с кварцевыми стеклами (10 × 10 мм) и культивировали в течение 1–3 сут при 37°C в среде 199 (pH 7.2), содержащей 20% сыворотки крови быка, глутамин (3%), пенициллин (100 Ед./мл) и стрептомицин (100 мг/мл). С помощью теста на α -нафтилэстеразу подтверждали, что по меньшей мере 96% клеток в монослоях являлись макрофагами (Monahan et al., 1981).

Эксперименты проводили при температуре 22–24°C 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 1 мМ ЭГТА и не содержала CaCl₂. Исследуемые агенты добавляли к макрофагам, находящимся в бескальциевой среде. Для инициации входа Ca²⁺ в клетки, в среду вводили 2 мМ Ca²⁺.

Измерение [Ca²⁺]_i. Использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Макрофаги инкубировали в течение 45 мин в физиологическом растворе, содержащем 2 мМ Fura-2AM, при 22–24°C. 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 управления экспериментом использовали систему обработки изображения ImageJ (плагин Micro-Manager 1.4).

Результатом измерений являлось отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2AM при облучении светом с длиной волны 340 нм к интенсивности флуоресценции при облучении светом с длиной волны 380 нм (F_{340}/F_{380}), где F_{340} — интенсивность флуоресценции Fura-2AM, связанного с Ca²⁺, а F_{380} — интенсивность флуоресценции Fura-2AM, не связанного с Ca²⁺, отражающая изменения [Ca²⁺]_i в клетках во время измерений (Brace, Elliott, 2000; Xie et al., 2002). Для избежания фотоблещения измерения проводили через каждые 20 с, облучая объект в течение 2 с. В экспериментах применяли объектив с увеличением 10× и апертурой 8 мм. Значения [Ca²⁺]_i рассчитывали по уравнению Гринкевича (Griniewicz et al., 1985). Статистический анализ проводили с применением *t*-критерия Стьюдента. Данные

представлены в виде среднего и стандартного отклонения. Каждую регистрацию получали для группы из 40–50 клеток. На рисунках представлены результаты однотипных экспериментов из 6–8 независимых. Достоверными считали различия при $P \leq 0.05$.

Использованные реактивы: все реактивы приобретали в фирме Sigma-Aldrich (США). Маточные растворы Fura-2AM (1 мМ), ЦПК (10 мМ) и тапсигаргина (0.5 мМ) готовили в диметилсульфоксиде. Препараты глутоксим и моликсан были от фирмы ФАРМА-ВАМ (Санкт-Петербург). Маточные растворы глутоксима (50 мг/мл), моликсана (50 мг/мл), ТФП (2 мг/мл) и ХП (25 мг/мл) готовили в воде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние хлорпромазина и трифлуоперазина на Ca²⁺-ответы, индуцируемые дисульфидсодержащими иммуномодуляторами. Фармакологические аналоги окисленного глутатиона (глутоксим и моликсан) используются как иммуномодуляторы и цитопротекторы в комплексной терапии бактериальных, вирусных и онкологических заболеваний (Борисов и др., 2001; Соколова и др., 2002; Антушевич и др., 2013; Толстой и др., 2019). Эти препараты оказывают комплексное влияние на процессы редокс-регуляции в клетках, однако тонкие биофизические механизмы их действия далеки от полного понимания.

В настоящей работе контрольные эксперименты показали, что инкубация макрофагов в течение 20 мин со 100 мкг/мл глутоксима (рис. 1а) или 100 мкг/мл моликсана (рис. 2а) в бескальциевой среде вызывает медленно нарастающее увеличение [Ca²⁺]_i, отражающее мобилизацию Ca²⁺ из внутриклеточных Ca²⁺-депо. Через 20 мин после добавления агентов [Ca²⁺]_i в среднем увеличивалась от базального уровня, равного 90 ± 18, до 135 ± 18 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$) для глутоксима и 134 ± 20 нМ ($n = 6$; $P < 0.05$) для моликсана. При введении в наружную среду 2 мМ Ca²⁺ наблюдали дальнейшее повышение [Ca²⁺]_i, отражающее депозависимый вход Ca²⁺ в цитозоль (рис. 1, 2). В среднем увеличение [Ca²⁺]_i во время входа Ca²⁺ составило 223 ± 22 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$) и 202 ± 20 нМ ($n = 6$; $P < 0.05$) для глутоксима и моликсана соответственно.

В наших экспериментах впервые было обнаружено, что преинкубация перитонеальных макрофагов с 25 мкг/мл ХП в течение 10 мин до введения 100 мкг/мл глутоксима приводила к значительному подавлению как мобилизации Ca²⁺ из депо (на 58.5 ± 4.6%, $n = 7$; $P < 0.05$), так и последующего депозависимого входа Ca²⁺ в клетки (на 59.1 ± 6.1%, $n = 7$; $P < 0.05$), индуцируемых глутоксимом (рис. 1б). Предварительная инкубация клеток с 2 мкг/мл ТФП в течение 15 мин до введения 100 мкг/мл глутоксима также вызывала подавление фазы мобилизации Ca²⁺ из депо (на 36.2 ± 5.7%, $n = 8$; $P < 0.05$) и депозависи-

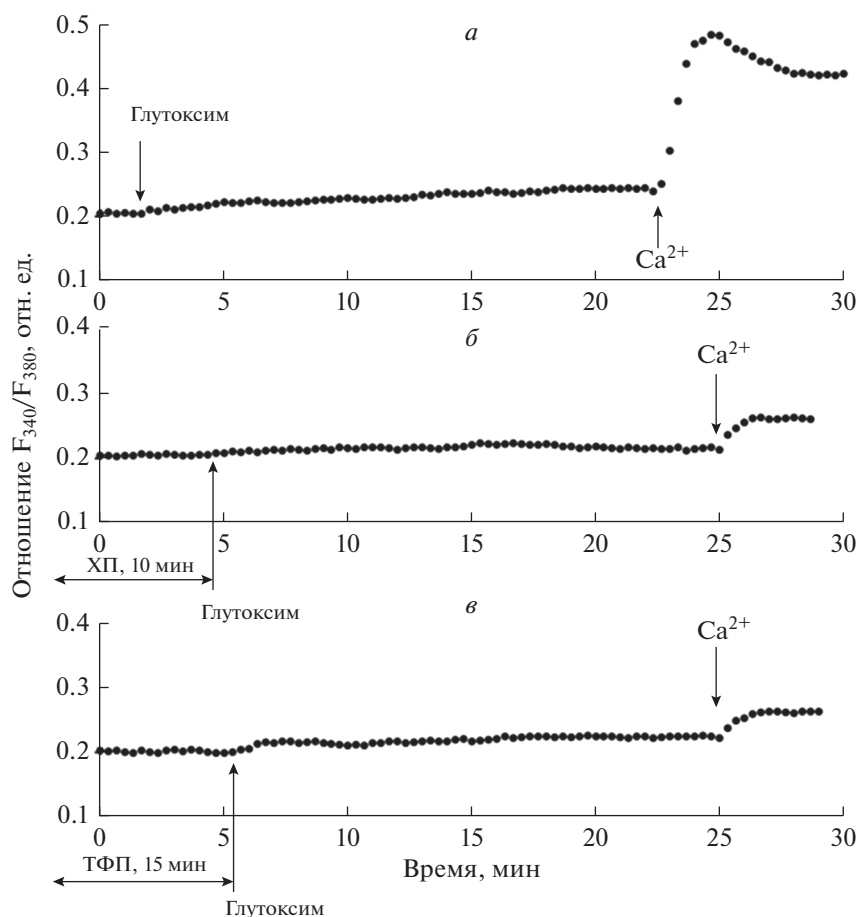


Рис. 1. Влияние хлорпромазина (ХП, 25 мкг/мл) и трифлуоперазина (ТФП, 2 мкг/мл) на увеличение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое глутоксимом в перитонеальных макрофагах крысы. Здесь и на рис. 2–4 по оси ординат – отношение интенсивностей флуоресценции Fuga-2AM при длинах волн возбуждающего излучения 340 и 380 нм (F_{340}/F_{380} , отн. ед.). Условия стимуляции: а – макрофаги инкубировали в течение 20 мин в присутствии 100 мкг/мл глутоксима в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca^{2+} инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} ; б, в – макрофаги, находящиеся в бескальциевой среде, инкубировали в течение 10 мин с ХП (б) или в течение 15 мин с ТФП (в), затем добавляли 100 мкг/мл глутоксима, через 20 мин вход Ca^{2+} инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} . Здесь и на рис. 2–4 каждая регистрация получена для группы из 40–50 клеток и представляет собой типичный вариант из 6–8 независимых экспериментов.

мого входа Ca^{2+} в макрофаги (на $60.7 \pm 7.1\%$, $n = 7$; $P < 0.05$), вызываемых глутоксимом (рис. 1в).

Сходные результаты были получены в экспериментах по влиянию ХП и ТФП на Ca^{2+} -ответы, вызываемые в макрофагах 100 мкг/мл моликсана (рис. 2б, в). Так, подавление фазы мобилизации Ca^{2+} из депо составило в среднем $43.2 \pm 8.9\%$ ($n = 8$; $P < 0.05$) и $63.3 \pm 2.4\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$), а подавление депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги – $52.3 \pm 9.1\%$ ($n = 8$; $P < 0.05$) и $65.3 \pm 5.0\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$) для ХП и ТФП соответственно.

Влияние фенотиозиновых нейролептиков на Ca^{2+} -ответы, индуцируемые ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз. В контрольных экспериментах мы обнаружили, что добавление 0.5 мкМ тапсигаргина к макрофагам, находящимся в бескальциевой среде, вызывает незначительное увеличение $[Ca^{2+}]_i$, отра-

жающее мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо (рис. 3а). В среднем увеличение $[Ca^{2+}]_i$ во время фазы мобилизации составило 26 ± 7 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$). При последующем введении в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} наблюдали депозависимый вход Ca^{2+} в цитозоль (рис. 3а). В среднем увеличение $[Ca^{2+}]_i$ во время входа Ca^{2+} составило 160.2 ± 20.5 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$). Сходные результаты мы получили при использовании 10 мкМ ЦПК (рис. 4а): в среднем увеличение $[Ca^{2+}]_i$ во время фазы мобилизации Ca^{2+} из депо, вызываемой ЦПК, составило 37.8 ± 9.8 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$), а во время депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги – 150.2 ± 23.7 нМ ($n = 7$; $P < 0.05$) (рис. 4а).

В наших экспериментах впервые было обнаружено, что преинкубация макрофагов с 25 мкг/мл ХП в номинально бескальциевой среде в течение 10 мин

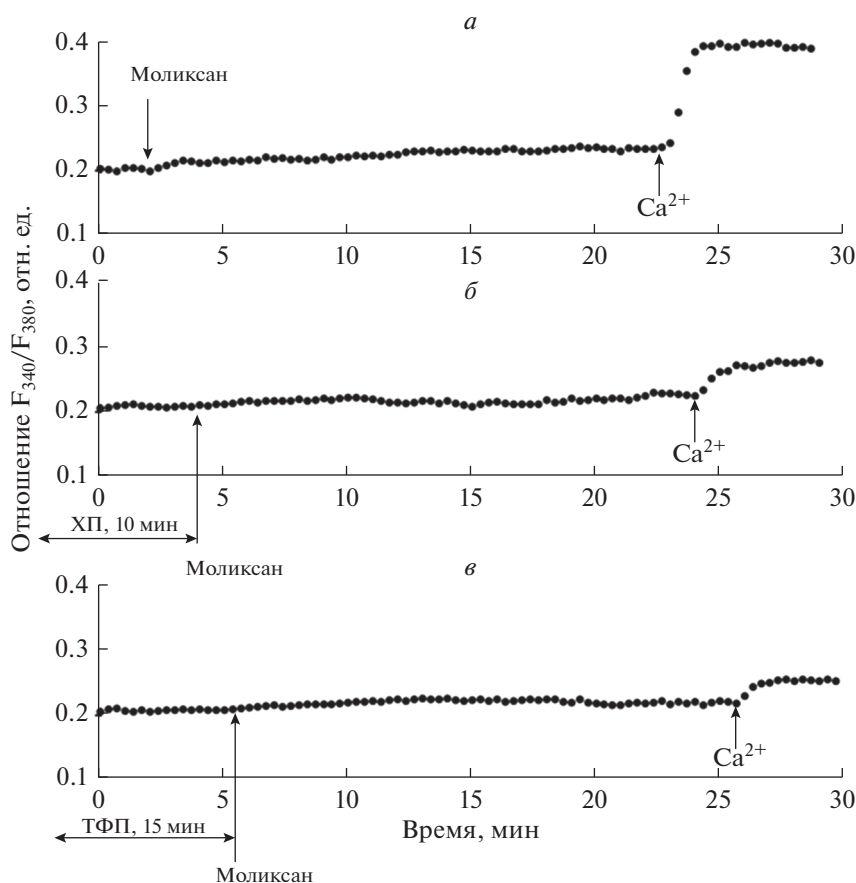


Рис. 2. Влияние ХП и ТФП на увеличение $[Ca^{2+}]_i$, вызываемое моликсаном (100 мкг/мл) в перитонеальных макрофагах крысы. *а, б, в* – Условия предварительной стимуляции в бескальциевой среде и последующей инициации входа Ca^{2+} те же, что указаны в подписи к рис. 1.

до введения 0.5 мкМ тапсигаргина вызывает значительное подавление обеих фаз Ca^{2+} -ответов, индуцированных тапсигаргином (рис. 3б). Так, подавление фазы мобилизации Ca^{2+} из депо составило $59.3 \pm 8.2\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$), а депозависимого входа Ca^{2+} – $68.2 \pm 10.4\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$). Сходные результаты были получены в экспериментах с применением 10 мкМ ЦПК (рис. 4б). Подавление ХП мобилизации Ca^{2+} из депо составило $40.2 \pm 9.1\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$), а подавление депозависимого входа Ca^{2+} – $63.4 \pm 11.5\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$).

Другой нейролептик фенотиазинового ряда ТФП также значительно подавлял обе фазы Ca^{2+} -ответов, индуцированных тапсигаргином или ЦПК. Показано, что предварительная инкубация клеток с 2 мкг/мл ТФП в течение 10 мин до введения 0.5 мкМ тапсигаргина (рис. 3в) вызывала подавление фазы мобилизации Ca^{2+} из депо (на $59.0 \pm 9.4\%$, $n = 7$; $P < 0.05$) и депозависимого входа Ca^{2+} в макрофаги (на $73.5 \pm 11.2\%$, $n = 7$; $P < 0.05$), вызываемых тапсигаргином (рис. 3в). Сходные данные были получены в экспериментах с применением 10 мкМ ЦПК (рис. 4в). Подавление мобилизации Ca^{2+} из депо ТФП составило

$40.1 \pm 9.7\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$), а подавление депозависимого входа Ca^{2+} – $60.4 \pm 10.8\%$ ($n = 7$; $P < 0.05$). Это подтверждает полученные нами ранее данные о том, что преинкубация клеток с ТФП приводит к подавлению депозависимого входа Ca^{2+} , индуцируемого ингибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз тапсигаргином и ЦПК, в перитонеальных макрофагах крысы (Крутецкая и др., 2018а).

Таким образом, в настоящей работе мы впервые на перитонеальных макрофагах крысы показали, что лиганды рецепторов сигма-1 нейролептики фенотиазинового ряда ХП и ТФП подавляют обе фазы Ca^{2+} -ответов, вызываемых глутоксимом или моликсаном, а также тапсигаргином и ЦПК, в перитонеальных макрофагах. Результаты согласуются с данными исследований других авторов, которые обнаружили, что лиганды рецепторов сигма-1 ХП и ТФП подавляют мобилизацию Ca^{2+} из депо и последующий депозависимый вход Ca^{2+} , вызываемые АТФ или тапсигаргином, в клетках лейкоза человека (линия HL-60) (Harper et al., 1997; Harper, Daly, 1999). Показано также, что ХП ингибирует депозависимый вход Ca^{2+} , индуцируемый брадикинином или тапсигаргином в

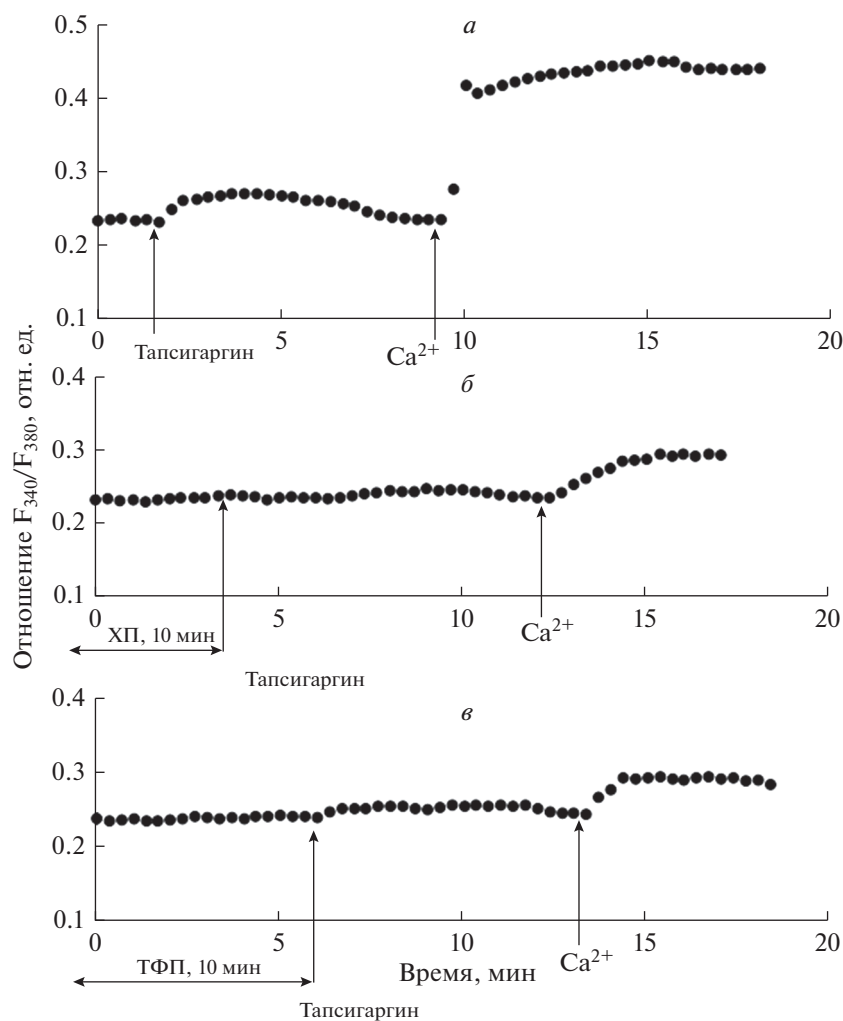


Рис. 3. Влияние ХП (25 мкг/мл) и ТФП (2 мкг/мл) на Ca²⁺-ответы, индуцируемые тапсигаргином (0.5 мкМ) в перитонеальных макрофагах крысы. а, б, в – Условия эксперимента те же, что указаны в подписи к рис. 1.

клетках феохромоцитомы крысы (линия PC12) (Choi et al., 2001), а преинкубация клеток с ТФП приводит к существенному подавлению депозависимого входа Ca²⁺, вызываемого тапсигаргином, в клетках эмбриональной почки человека (линия НЕК-293) (Wang et al., 2015). Обнаружено также, что антагонисты сигма-1 рецепторов (вещества VD1063 и VD1047) ингибируют депозависимый вход Ca²⁺, индуцируемый гистамином в эндотелиальных клетках подкожной вены ноги человека (Amer et al., 2013), а VD1063 значительно подавляет депозависимый вход Ca²⁺, вызываемый тапсигаргином, в клетках аденокарциномы молочной железы человека (линия MCF7) (Gasparre et al., 2017). Кроме того, известно, что ХП и ТФП ингибируют потенциалзависимые Ca²⁺-каналы в клетках разных типов. Так, ХП обратимо и дозозависимо блокирует потенциалзависимые Ca²⁺-каналы L- и T-типов в клетках нейробластомы мыши (линия N1E-115) (Ogata, Narahashi, 1990; Ogata et al., 1990), потенциалзависимые

Ca²⁺-каналы R-типа в нейронах человека (McNaughton et al., 2001) и Ca²⁺-каналы L-типа в клетках феохромоцитомы крысы (линия PC12) (Ito et al., 1996), а ТФП блокирует потенциалзависимые Ca²⁺-каналы L-типа в гладкомышечных клетках крысы (Nakazawa et al., 1993) и нейронах улитки *Helix aspersa* (Cruzblanca et al., 1998).

Результаты настоящей и более ранних работ (Крутецкая и др., 2017, 2018в) о подавлении лигандами рецепторов сигма-1 Ca²⁺-ответов, вызываемых глутоксिमом и моликсаном в макрофагах, свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в комплексном сигнальном каскаде, запускаемом глутоксिमом или моликсаном и приводящем к увеличению [Ca²⁺]_i в перитонеальных макрофагах крыс. Результаты указывают также на нежелательность совместного применения в клинической практике препаратов глутоксима или моликсана и нейролептиков фенотиазинового ряда ХП и ТФП.

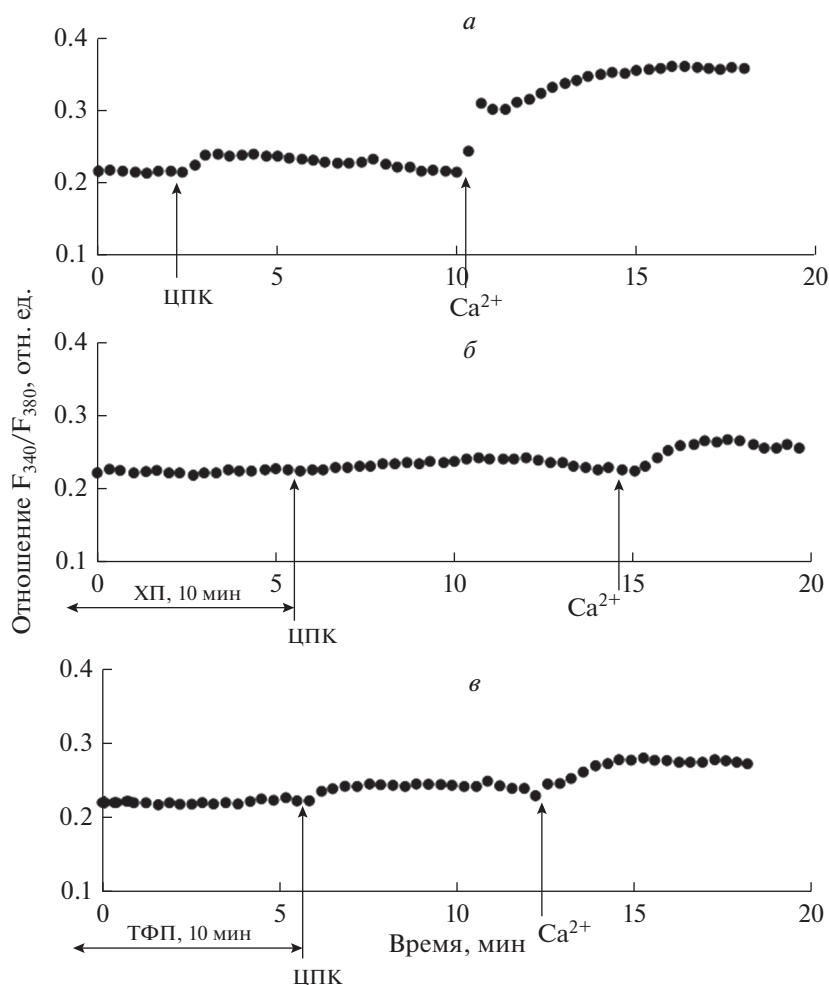


Рис. 4. Влияние ХП (25 мкг/мл) и ТФП (2 мкг/мл) на Ca²⁺-ответы, индуцируемые циклопязоникой кислотой (ЦПК, 10 мкМ) в перитонеальных макрофагах крысы. *а, б, в* – Условия эксперимента те же, что указаны в подписи к рис. 1.

Полученные нами данные свидетельствуют также об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа Ca²⁺, индуцируемого дисульфидсодержащими иммуномодуляторами и ингибиторами эндоплазматических Ca²⁺-АТФаз, в перитонеальных макрофагах крыс и позволяют рассматривать рецепторы сигма-1 в качестве нового регуляторного компонента сигнального комплекса депозависимого входа Ca²⁺ в макрофагах. Рецепторы сигма-1 могут влиять на депозависимый вход Ca²⁺, модулируя связывание между основными компонентами белкового комплекса депозависимого входа Ca²⁺ – белками STIM1 в мембране эндоплазматического ретикулума и Orai1 в плазмалемме (Srivats et al., 2016).

Результаты могут также способствовать более детальному пониманию молекулярных механизмов фармакологического действия фенотиазиновых нейролептиков. Кроме того, полученные данные могут иметь значение для терапии заболеваний, опосредованных нарушением функционирования ре-

цепторов сигма-1. Так, известно, что изменения субклеточной локализации, экспрессии и сигнальных функций рецепторов сигма-1 приводят к развитию широкого ряда заболеваний человека (Su et al., 2010, 2016; Rousseaux, Greene, 2016; Schmidt, Kruse, 2019; Aishwarya et al., 2021). Выявлено участие этих рецепторов в патофизиологии нейропсихиатрических (шизофрении, тревожных расстройств, депрессивных состояний и деменции) (Hayashi, Su, 2004; Tsai et al., 2009, 2014; Ishikawa, Hashimoto, 2010; Hayashi, 2015; Voronin et al., 2020), нейродегенеративных (болезней Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона, бокового амиотрофического склероза) (Ryskamp et al., 2017, 2019; Penke et al., 2018; Hayashi, 2019; Schmidt, Kruse, 2019; Yang et al., 2019; Herrando-Grabulosa et al., 2020; Zhemkov et al., 2021), онкологических (Kim, Maher, 2017; Soriani, Rapetti-Mauss, 2017; Pontisso, Combettes, 2021) и сердечнососудистых (Stracina, Novakova, 2018; Aishwarya et al., 2021) заболеваний, болевых синдромов (Merlos et al., 2017a, 2017b) и ретинопатий (Wang et al., 2017; Smith et al.,

2018). Это позволило рассматривать рецепторы сигма-1 как перспективные фармакологические мишени для терапии этих заболеваний.

В последнее время изучается также возможная роль сигма-1 рецепторов в патофизиологии коронавирусной инфекции (COVID-19). Появляются данные, что рецепторы сигма-1 могут быть перспективной терапевтической мишенью при лечении пациентов с COVID-19. Полагают, что рецепторы сигма-1 регулируют ключевые механизмы адаптивного стрессового ответа клеток-хозяев и принимают участие в ранних стадиях репликации вируса (Vela, 2020; Hashimoto, 2021).

Многие перепрофилированные лекарства, включенные в схемы комплексной терапии пациентов с COVID-19, часто идентифицируются как лиганды рецепторов сигма-1. К их числу относятся нейролептики галоперидол, ХП и ТФП (Plaze et al., 2020; Vela, 2020). Полагают, что наиболее перспективным препаратом является ХП (Muric et al., 2020; Nobile et al., 2020; Plaze et al., 2020; Stip, 2020; Stip et al., 2020). Имеются данные, что катионные амфифильные соединения, к которым относятся фенотиазиновые нейролептики, имеют противовирусную активность и подавляют вход и репликацию РНК вирусов (Otręba et al., 2020; Vela, 2020; Gitahy Falcao Faria et al., 2021). Так, показано, что ХП ингибирует репликацию SARS-CoV-2 в клетках обезьяны (линия VeroE6) и клетках эпителия альвеол человека (линия A549-ACE2) (Plaze et al., 2021). Кроме того, лиганды рецепторов сигма-1 галоперидол (Hoertel et al., 2021a) и ХП (Hoertel et al., 2021b) уже прошли клинические испытания в качестве препаратов для терапии пациентов с COVID-19.

Известно также, что вирусы выработали механизмы нарушения Ca^{2+} -гомеостаза клеток хозяев и увеличивают $[Ca^{2+}]_i$, поскольку Ca^{2+} необходим для проникновения вируса в клетку, для репликации, созревания и освобождения вируса (Zhou et al., 2009; Chen et al., 2019). В связи с этим, блокирование вызванного вирусом увеличения $[Ca^{2+}]_i$ путем ингибирования каналов кальциевого выброса в мембране эндоплазматического ретикулаума (рецепторов инозитол-1,4,5-трифосфата и рианодинных рецепторов) или каналов входа Ca^{2+} в плазмалемме (потенциалзависимых и депозависимых Ca^{2+} -каналов) является одним из подходов в терапии вирусных инфекций (Chen et al., 2019). Так, обнаружено, что блокаторы потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов нифедипин и амлодипин снижают смертность и уменьшают риск необходимости искусственной вентиляции легких у пожилых пациентов с COVID-19 и гипертонией (Solaimanzadeh, 2020; Zhang et al., 2020).

Таким образом, полученные нами данные о подавлении лигандами рецепторов сигма-1 (ХП и ТФП) обеих фаз Ca^{2+} -ответов, индуцируемых дисульфидсодержащими иммуномодуляторами и ин-

гибиторами эндоплазматических Ca^{2+} -АТФаз в перитонеальных макрофагах крыс, дополнительно подтверждают многогранность эффектов производных фенотиазина и свидетельствуют в пользу терапевтического потенциала фенотиазиновых нейролептиков, как лигандов рецепторов сигма-1.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках плановых тем Кафедры биофизики Санкт-Петербургского государственного университета и Кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-Медицинской академии им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург), а также Договоров СПбГУ на выполнение научно-исследовательских работ № 01/18-НИОКР от 05.03.2018 и 05/03-20 от 12.03.2020.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных проводили в соответствии с общепринятыми этическими международными нормами (International guiding principles for biomedical research involving animals, 1985) и требованиями приказа Минздрава России № 267 от 19.06.2003 “Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антушевич А.А., Антонов В.Г., Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е., Ладанова Т.В., Бурова Е.Б. 2013. Патофизиологические основы эффективности глутоксима как средства сопровождения лучевой терапии рака ротоглотки. Вестник Рос. Военно-мед. акад. Т. 3. № 43. С. 32. (Antushевич А.А., Antonov V.G., Grebenyuk A.N., Antushевич А.Е., Ladanova T.V., Burova E.B. 2013. Pathophysiologic rationale of effectiveness of glutoxim supportive therapy add-on to radiotherapy management of oropharyngeal cancer. Vestnik Rossiiskoi Voenno-medicinskoi akademii. V. 3. № 43. P. 32.)
- Борисов А.Е., Кожемякин 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 регионального и системного введения препаратов группы тиопозитинов при циррозе печени. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. Т. 4. № 2. С. 32. (Borisov A.E., Kozhemyakin L.A., Antushевич А.Е., Ketliskaya 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 thiopozetin group medicines for cirrhosis of the liver. First communication. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. V. 4. № 2. P. 32.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д. 2017. Антагонист рецепторов сигма-1 галоперидол подавляет Ca^{2+} -ответы в макрофагах, вызываемые глутоксимом и моликса-

- ном. Доклады Академии наук. Т. 472. № 6. С. 723. (*Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D.* 2017. Sigma-1 receptor antagonist haloperidol attenuates Ca^{2+} responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. *Doklady Biochem. Biophys.* V. 472. № 1. P. 74.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д.* 2018а. Трифлуоперазин подавляет в макрофагах депозависимый вход Ca^{2+} . Доклады Академии наук. Т. 478. № 6. С. 709. (*Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D.* 2018а. Trifluoperazine attenuates store-dependent Ca^{2+} entry in macrophages. *Doklady Biochem. Biophys.* V. 478. № 1. P. 44.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д.* 2018б. Антагонист рецепторов сигма-1 галоперидол подавляет депозависимый вход Ca^{2+} в макрофагах. Доклады Академии наук. Т. 480. № 5. С. 613. (*Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D.* 2018б. Sigma-1 receptor antagonist haloperidol attenuates store-dependent Ca^{2+} entry in macrophages. *Doklady Biochem. Biophys.* V. 480. № 1. P. 162.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д.* 2018в. Амитриптилин подавляет Ca^{2+} -ответы в макрофагах, вызываемые глутоксимом и моликсаном. Доклады Академии наук. Т. 481. № 5. С. 570. (*Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D.* 2018в. Amitriptyline attenuates Ca^{2+} responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. *Doklady Biochemistry and Biophysics.* V. 481. № 1. P. 222.)
- Соколова Г.Б., Синицын М.В., Кожемякин Л.А., Перельман М.И.* 2002. Глутоксим в комплексной терапии туберкулеза. Антибиотики и химиотерапия. Т. 47. № 2. С. 20. (*Sokolova G.B., Sinitsyn M.V., Kozhemiakin L.A., Perel'man M.I.* 2002. Glutoxim in the complex treatment of tuberculosis. *Antibiot. Khimioter.* V. 47. № 2. P. 20.)
- Толстой О.А., Цыган В.Н., Климов А.Г., Степанов А.В., Антушевич А.Е.* 2019. Экспериментальная оценка эффективности препарата моликсан по восстановлению работоспособности вирусинфицированных лабораторных животных. Известия Рос. военно-мед. акад. Т. 38. № 1. С. 271. (*Tolstoy O.A., Tsygan V.N., Klimov A.G., Stepanov A.V., Antushevich A.E.* 2019. Experimental evaluation of the efficiency of the drug molixan on restoring the operation of virus-infected laboratory animals. *Bull. Russ. Military Med. Acad.* V. 38. № 1. P. 271.)
- Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M., Remex N.S., Bhuiyan M.S.* 2021. Sigma1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology. *Front. Physiol.* V. 12. P. 705575. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.705575>
- Alexander S.P.H., Benson H.E., Faccenda E., Pawson A.J., Sharman J.L., McGrath J.C., Catterall W.A., Spedding M., Peters J.A., Harmar A.J.* 2013. The concise guide to pharmacology 2013/14: overview. *Br. J. Pharmacol.* V. 170. P. 1449. <https://doi.org/10.1111/bph.12444>
- Alon A., Schmidt H., Zheng S., Kruse A.C.* 2017. Structural perspectives on sigma-1 receptor function. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 5.
- Amer M.S., McKeown L., Tumova S., Liu R., AL Seymour V., Wilson L.A., Naylor J., Greenhalgh K., Hou B., Majeed Y., Turner P., Sedo A., O'Regan D. J., Li J., Bon R. S., Porter K.E., Beech D.J.* 2013. Inhibition of endothelial cell Ca^{2+} entry and transient receptor potential channels by sigma-1 receptor ligands. *Br. J. Pharmacol.* V. 168. P. 1445.
- Ayano G.* 2016. First generation antipsychotics: pharmacokinetics, pharmacodynamics, therapeutic effects and side effects: A review. *Res. Rev. J. Chem.* V. 5. P. 53.
- Berlansky S., Humer C., Sallinger M., Frischauf I.* 2021. 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.* V. 22. P. 471. <https://doi.org/10.3390/ijms22010471>
- Berridge M.J., Bootman M.D., Lipp P.* 1998. Calcium, a life and death signal. *Nature.* V. 395. P. 645.
- Berridge M.J., Bootman M.D., Roderick H.L.* 2003. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodeling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* V. 4. P. 517.
- Berridge M.J., Lipp P., Bootman M.D.* 2000. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* V. 1. P. 11.
- Brailoiu G.C., Deliu E., Console-Bram L.M., Soboloff J., Abood M.E., Unterwald E.M., Brailoiu E.* 2016. Cocaine inhibits store-operated Ca^{2+} entry in brain microvascular endothelial cells: Critical role for sigma-1 receptors. *Biochem. J. V.* 473. P. 1.
- 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.* V. 131. P. 761.
- Carafoli E., Krebs J.* 2016. Why calcium? How calcium became the best communicator. *J. Biol. Chem.* V. 291. P. 20849.
- Chen X., Cao R., Zhong W.* 2019. Host calcium channels and pumps in viral infections. *Cells.* V. 9. 94. <https://doi.org/10.3390/cells9010094>
- Choi S.-Y., Kim Y.-H., Lee Y.-K., Kim K.-T.* 2001. Chlorpromazine inhibits store-operated calcium entry and subsequent noradrenaline secretion in PC12 cells. *British J. Pharmacol.* V. 132. P. 411.
- Chu U.B., Ruoho A.E.* 2016. Biochemical pharmacology of the sigma-1 receptor. *Mol. Pharmacol.* V. 89. P. 142.
- Cobos E.J., Entrena J.M., Nieto F.R., Cendán C.M., Del Pozo E.* 2008. Pharmacology and therapeutic potential of sigma (1) receptor ligands. *Curr. Neuropharmacol.* V. 6. P. 344.
- Conrad R.E.* 1981. Induction and collection of peritoneal exudate macrophages. In: *Manual of macrophages methodology.* N.Y.: Marcell Dekker. P. 5.
- Cruzblanca H., Gamiño S.M., Bernal J., Alvarez-Leefmans F.J.* 1998. Trifluoperazine enhancement of Ca^{2+} -dependent inactivation of L-type Ca^{2+} currents in *Helix aspersa* neurons. *Invert. Neurosci.* V. 3. P. 269.
- Delprat B., Crouzier L., Su T-P., Maurice T.* 2020. At the crossing of ER stress and MAMs: A key role of sigma-1 receptor? *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 1131. P. 699.
- Dilsaver S.C.* 1993. Antipsychotic agents: A review. *Amer. Fam. Phys. V.* 47. P. 199.
- Gitahy Falcao Faria C., Weiner L., Petriguet J., Hingray C., Ruiz De Pellon Santamaria A., Villoutreix B.O., Beaune P., Lebroyer M., Javelot H.* 2021. Antihistamine and cationic am-

- phiphilic drugs, old molecules as new tools against the COVID-19? *Med. Hypotheses*. V. 148: 110508. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110508>
- Gasparre G., Abate C., Carlucci R., Berardi F., Cassano G.* 2017. The σ_1 receptor agonist (+)-pentazocine increases store-operated Ca^{2+} entry in MCF7 σ_1 and SK-N-SH cell lines. *Pharmacol. Rep.* V. 69. P. 542.
- Goeger D.E., Riley R.T., Dorner J.W., Cole R.J.* 1988. Cyclopiazonic acid inhibition of the Ca^{2+} transport ATPase in rat skeletal muscle sarcoplasmic reticulum vesicles. *Biochem. Pharmacol.* V. 37. P. 978.
- Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.Y.* 1985. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* V. 260. P. 3440.
- Hanner M., Moebius F.F., Flandorfer A., Knaus H.G., Striessnig J., Kempner E., Glossman H.* 1996. Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma 1-binding site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 93. P. 8072. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.15.8072>
- Harper J.L., Daly J.W.* 1999. Inhibitors of store-operated calcium channels: Imidazoles, phenothiazines, and other tricyclics. *Drug Dev. Res.* V. 47. P. 107.
- Harper J.L., Shin Y., Daly J.W.* 1997. Loperamide: A positive modulator for store-operated calcium channels? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 94. P. 14912.
- Hashimoto K.* 2021. Repurposing of CNS drugs to treat COVID-19 infection: Targeting the sigma-1 receptor. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* V. 271. P. 249. <https://doi.org/10.1007/s00406-020-01231-x>
- Hayashi T.* 2015. Sigma-1 receptor: the novel intracellular target of neuropsychotropic drugs. *J. Pharmacol. Sci.* V. 127. P. 2.
- Hayashi T.* 2019. The sigma-1 receptor in cellular stress signaling. *Front. Neurosci.* V. 13: 733. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00733>
- Hayashi T., Maurice T., Su T.-P.* 2000. Ca^{2+} signalling via σ_1 -receptors: novel regulatory mechanism affecting intracellular Ca^{2+} concentration. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* V. 293. P. 788.
- Hayashi T., Su T.-P.* 2004. Sigma-1 receptor ligands: potential in the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS Drugs.* V. 18. P. 269.
- Hayashi T., Su T.-P.* 2007. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca^{2+} signaling and cell survival. *Cell.* V. 131. P. 596.
- Herrando-Grabulosa M., Gaja-Capdevila N., Vela J.M., Navarro X.* 2020. Sigma 1 receptor as a therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis. *Br. J. Pharmacol.* V. 178. P. 1336.
- Hoertel N., Sanchez-Rico M., Vernet R., Jannot A.-S., Neuraz A., Blanco C., Lemogne C., Airagnes G., Paris N., Daniel Ch., Gramfort A., Lemaitre G., Bernaux M., Bellamine A., Beeker N., Limosin F.* 2021a. Observational study of haloperidol in hospitalized patients with COVID-19. *PLoS One.* V. 16. P. e0247122. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247122>
- Hoertel N., Sanchez-Rico M., Vernet R., Jannot A.-S., Neuraz A., Blanco C., Lemogne C., Airagnes G., Paris N., Daniel Ch., Gramfort A., Lemaitre G., Bernaux M., Bellamine A., Beeker N.* 2021b. Observational study of chlorpromazine in hospitalized patients with COVID-19. *Clin. Drug Investigation.* V. 41. P. 221. <https://doi.org/10.1007/s40261-021-01001-0>
- Ishikawa M., Hashimoto K.* 2010. The role of sigma-1 receptors in the pathophysiology of neuropsychiatric diseases. *J. Receptor, Ligand Channel Res.* V. 3. P. 25.
- Ito K., Nakazawa K., Koizumi S., Liu M., Takeuchi K., Hashimoto T., Ohno Y., Inoue K.* 1996. Inhibition by antipsychotic drugs of L-type Ca^{2+} channel current in PC12 cells. *Eur. J. Pharmacol.* V. 314. P. 143.
- Itzhak Y., Ruhland M., Krahling H.* 1990. Binding of umespiro-1 to the sigma receptor: evidence for multiple affinity states. *Neuropharmacol.* V. 29. P. 181.
- Kekuda R., Prasad P.D., Fei Y.J., Leibach F.H., Ganapathy V.* 1996. Cloning and functional expression of the human type 1 sigma receptor (hSigmaR1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 229. P. 553. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.1842>
- Kim F.J., Maher C.M.* 2017. Sigma 1 pharmacology in the context of cancer. *Handb. Exp. Pharmacol.* V. 244. P. 237.
- Kruse A.* 2017. Structural insights into sigma 1 function. *Handb. Exp. Pharm.* V. 244. P. 13.
- Maurice T., Su T.-P.* 2009. The pharmacology of sigma-1 receptors. *Pharmacol. Ther.* V. 124. P. 195.
- McNaughton N.C.L., Green P.J., Randall A.D.* 2001. Inhibition of human α_{1E} subunit-mediated Ca^{2+} channels by the antipsychotic agent chlorpromazine. *Acta Physiol. Scand.* V. 173. P. 401. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28315267>
- Merlos M., Burgueño J., Portillo-Salido E., Plata-Salamán C.R., Vela J.M.* 2017a. Pharmacological modulation of the sigma 1 receptor and the treatment of pain. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 85. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50174-1_8
- Merlos M., Romero L., Zamanillo D., Plata-Salamán C., Vela J.M.* 2017b. Sigma-1 receptor and pain. *Handb. Exp. Pharmacol.* V. 244. P. 131.
- 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.* V. 58. P. 1089.
- Monnet F.P.* 2005. Sigma-1 receptor as regulator of neuronal intracellular Ca^{2+} : clinical and therapeutic relevance. *Biol. Cell.* V. 97. P. 878.
- Muric N.N., Arsenijevic N.N., Milica M., Borovcanin M.M.* 2020. Chlorpromazine as a potential antipsychotic choice in COVID-19 treatment. *Front. Psychiatry.* V. 11. P. 612347. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.612347>
- Nakazawa K., Higo K., Abe K., Tanaka Y., Saito H., Matsuki N.* 1993. Blockade by calmodulin inhibitors of Ca^{2+} channels in smooth muscle from rat vas deferens. *Br. J. Pharmacol.* V. 109. P. 137.
- Nobile B., Durand M., Courtet P., Van de Perre P., Nagot N., Molès J.P., Olié E.* 2020. Could the antipsychotic chlorpromazine be a potential treatment for SARS-CoV-2? *Schizophrenia Res.* V. 223. P. 373.
- Ogata N., Yoshii M., Narahashi T.* 1990. Differential block of sodium and calcium channels by chlorpromazine in mouse neuroblastoma cells. *J. Physiol.* V. 420. P. 165.
- Ogata N., Narahashi T.* 1990. Potent blocking action of chlorpromazine on two types of calcium channels in cultured neuroblastoma cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* V. 252. P. 1142.

- Ossa F., Schnell J.R., Ortega-Roldan J.L. 2017. A review of the human sigma-1 receptor structure. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 15.
- Otręba M., Korsmider L., Rzepecka-Stojko A. 2020. Antiviral activity of chlorpromazine, fluphenazine, perphenazine, prochlorperazine, and thioridazine towards RNA-viruses. A review. *Europ. J. Pharmacol.* V. 887. P. 173553. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173553>
- Penke B., Fulop L., Szucs M., Frecska E. 2018. The role of sigma-1 receptor, and intracellular chaperone in neurodegenerative diseases. *Curr. Neuropharmacol.* V. 16. P. 97.
- Plaze M., Attali D., Petit A.-C., Blatzer M., Simon-Loriere E., Vinckier F., Cachia A., Chretien F., Gaillard R. 2020. Repurposing chlorpromazine to treat COVID-19: The reCoVery study. *L'Encephale.* V. 46. P. 169.
- Plaze M., Attali D., Prot M., Petit A.-C., Blatzer M., Vinckier F., Levillayer L., Chiaravalli J., Perin-Dureau F., Cachia A., Friedlander G., Chretien F., Simon-Loriere E., Gaillard R. 2021. Inhibition of the replication of SARS-CoV-2 in human cells by the FDA-approved drug chlorpromazine. *Int. J. Antimicrobial Agents.* V. 57. P. 106274. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106274>
- Pontisso I., Combettes L. 2021. Role of sigma-1 receptor in calcium modulation: possible involvement in cancer. *Genes.* V. 12. P. 139. <https://doi.org/10.3390/genes12020139>
- Randriamampita C., Trautmann A. 1987. Ionic channels in murine macrophages. *Cell. Biol.* V. 105. P. 761.
- Rosado J.A. 2016. Sigma-1 receptors: a new pathway for the modulation of store-operated calcium entry. *Biochem. J.* V. 473. P. e9–e10. <https://doi.org/10.1042/BJ20151144>
- Rousseaux C.G., Greene S.F. 2016. Sigma receptors [σ Rs]: Biology in normal and diseased states. *J. Recept. Signal Transduct.* V. 36. P. 327.
- Ryskamp D.A., Korban S., Zhemkov V., Kraskovskaya N., Bezprozvanny I. 2019. Neuronal sigma-1 receptors: signaling functions and protective roles in neurodegenerative diseases. *Front. Neurosci.* V. 13. P. 862. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00862>
- Ryskamp D., Wu J., Geva M., Kusko R., Grossman I., Hayden M., Bezprozvanny I. 2017. The sigma 1 receptor mediates the beneficial effects of pridopidine in a mouse model of Huntington disease. *Neurobiol. Dis.* V. 97. P. 46.
- Schmidt H.R., Betz R.M., Dror R.O., Kruse A.C. 2018. Structural basis for σ 1 receptor ligand recognition. *Nat. Struct. Mol. Biol.* V. 25. P. 981.
- Schmidt H.R., Kruse A.C. 2019. The molecular function of σ receptors: past, present, and future. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 40. P. 636.
- Schmidt H.R., Zheng S., Gurpinar E., Koehl A., Manglik A., Kruse A.C. 2016. Crystal structure of the human σ 1 receptor. *Nature.* V. 532. P. 527.
- Schuster D.I., Arnold F.J., Murphy R.B. 1995. Purification, pharmacological characterization and photoaffinity labeling of sigma receptors from rat and bovine brain. *Brain Res.* V. 670. P. 14.
- Smith S.B., Wang J., Cui X., Mysona B.A., Zhao J., Bollinger K.E. 2018. Sigma 1 receptor: a novel therapeutic target in retinal disease. *Prog. Retin Eye Res.* V. 67. P. 130. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.07.003>
- Solaimanzadeh I. 2020. Nifedipine and amlodipine are associated with improved mortality and decreased risk for intubation and mechanical ventilation in elderly patients hospitalized for COVID-19. *Cureus.* V. 12. P. e8069. <https://doi.org/10.7759/cureus.8069>
- Soriani O., Rapetti-Mauss R. 2017. Sigma 1 receptor and ion channel dynamics in cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 63. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50174-1>
- Srivats S., Balasuriya D., Pasche M., Vistal G., Edwardson J.M., Taylor C.W., Murrell-Lagnado R.D. 2016. Sigma 1 receptors inhibit store-operated Ca^{2+} entry by attenuating coupling of STIM1 to Orai1. *J. Cell Biol.* V. 213. P. 65.
- Stip E. 2020. Psychiatry and COVID-19: The role of chlorpromazine. *Can. J. Psychiatry.* V. 65. P. 739.
- Stip E., Rizvi T.A., Mustafa F., Javaid S., Aburuz S., Ahmed N.N., Abdel Aziz K., Arnone D., Subbarayan A., Al Mugaddam F., Khan G. 2020. The large action of chlorpromazine: translational and transdisciplinary considerations in the face of COVID-19. *Front. Pharmacol.* V. 11. P. 577678. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.577678>
- Stracina T., Novakova M. 2018. Cardiac sigma receptors – an update. *Physiol. Res.* V. 67. P. S561.
- Su T.-P., Hayashi T., Maurice T., Buch S., Ruoho A.E. 2010. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 31. P. 557.
- Su T.-P., Su T.-C., Nakamura Y., Tsai S.-Y. 2016. The sigma-1 receptor as a pluripotent modulator in living systems. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 37. P. 262.
- Tam S.W., Cook L. 1984. Sigma opiates and certain antipsychotic drugs mutually inhibit (+)-[3H]SKF 10,047 and [3H]haloperidol binding in guinea pig brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 81. P. 5618.
- Thastrup O., Dawson A.P., Scharff O., Foder B., Cullen P.J., Drobak B.K., Bjerrum P.J., Christensen S.B., Hanley M.R. 1989. Thapsigargin, a novel molecular probe for studying intracellular calcium release and storage. *Agents Actions.* V. 27. P. 17.
- Trebak M., Kinet J.-P. 2019. Calcium signalling in T cells. *Nat. Rev. Immunol.* V. 19. P. 154.
- Tsai S.-Y., Hayashi T., Mori T., Su T.-P. 2009. Sigma-1 receptor chaperones and diseases. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* V. 9. P. 184.
- Tsai S.-Y., Pokrass M.J., Klauer N.R., De Credico N.E., Su T.-P. 2014. Sigma-1 receptor chaperones in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Expert Opin. Ther. Targets.* V. 18. P. 1461. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.972939>
- Vavere E., Zvejniece L., Maurice T., Dambrova M. 2019. Allosteric modulators of sigma-1 receptor: a review. *Front. Pharmacol.* V. 10. P. 223. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00223>
- Vela J.M. 2020. Repurposing sigma-1 receptor ligands for COVID-19 therapy? *Front. Pharmacol.* V. 11. P. 582310. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.582310>
- Vig M., Kinet J.-P. 2009. Calcium signaling in immune cells. *Nat. Immunol.* V. 10. P. 21.
- Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Seredenin S.B. 2020. Chaperone Sigma1R and antidepressant effect. *Int. J. Mol. Sci.* V. 21. P. 7088. <https://doi.org/10.3390/ijms21197088>

- Wang L., Zhang L., Li S., Zheng Y., Yan X., Chen M., Wang H., Putney J.W., Luo D. 2015. Retrograde regulation of STIM1-Orai1 interaction and store-operated Ca^{2+} entry by calsequestrin. *Sci. Rep.* V. 5. P. 1.
- Wang J., Cui X., Roon P., Saul A., Smith S.B. 2017. The role of Sigma1R in mammalian retina. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 267.
- Wu Z., Bowen W.D. 2008. 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.* V. 283. P. 28198.
- Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J.A. 2002. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitative calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem.* V. 277. P. 16559.
- Yang K., Wang C., Sun T. 2019. The roles of intracellular chaperone proteins, sigma receptors, in Parkinson's disease (PD) and major depressive disorder (MDD). *Front. Pharmacol.* V. 10. P. 528.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00528>
- Zhang L.-K., Sun Y., Zeng H., Wang Q., Jiang X., Shang W.-J., Wu Y., Li Sh., Zhang Y.-L., Hao Z.-N., Chen H., Jin R., Liu W., Li H., Peng K., Xiao G. 2020. Calcium channel blocker amlodipine besylate therapy is associated with reduced case fatality rate of COVID-19 patients with hypertension. *Cell Discovery.* V. 6. P. 96.
<https://doi.org/10.1038/s41421-020-00235-0>
- Zhemkov V., Geva M., Hayden M.R., Bezprozvanny I. 2021. Sigma-1 receptor (S1R) interaction with cholesterol: mechanisms of S1R activation and its role in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 4082.
<https://doi.org/10.3390/ijms22084082ps>
- Zhoua Y., Freyb T.K., Yanga J.J. 2009. Viral calciomycs: interplays between Ca^{2+} and virus. *Cell Calcium.* V. 46. P. 1.

Sigma-1 Receptor Ligands Chlorpromazine and Trifluoperazine Attenuate Ca^{2+} Responses in Rat Peritoneal Macrophages

L. S. Milenina^{a, *}, Z. I. Krutetskaya^{a, **}, V. G. Antonov^b, and N. I. Krutetskaya^a

^aChair of Biophysics, St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

^bChair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, 194044 Russia

*e-mail: l.milenina@spbu.ru

**e-mail: z.krutetskaya@spbu.ru

Sigma-1 receptors are ubiquitous multifunctional ligand-operated molecular chaperones in the endoplasmic reticulum membrane with a unique history, structure, and pharmacological profile. Sigma-1 receptors bind ligands of different chemical structure and pharmacological effect and modulate a wide range of cellular processes in health and disease, including Ca^{2+} signaling processes. To elucidate the involvement of sigma-1 receptors in Ca^{2+} signaling processes in macrophages, the effect of sigma-1 receptor ligands, phenothiazine neuroleptics chlorpromazine and trifluoperazine, on Ca^{2+} responses induced by endoplasmic Ca^{2+} -ATPase inhibitors thapsigargin and cyclopiazonic acid, as well as by disulfide-containing immunomodulators glutoxim and molixan, was investigated in rat peritoneal macrophages. Using Fura-2AM microfluorimetry we have shown for the first time that chlorpromazine and trifluoperazine suppress both phases of Ca^{2+} responses induced by glutoxim, molixan, thapsigargin and cyclopiazonic acid. The data obtained indicate the involvement of sigma-1 receptors in the complex signaling cascade triggered by glutoxim or molixan and leading to intracellular Ca^{2+} concentration increase in macrophages. The results also suggest the involvement of sigma-1 receptors in the regulation of store-dependent Ca^{2+} entry in macrophages.

Keywords: trifluoperazine, chlorpromazine, sigma-1 receptors, peritoneal macrophages, intracellular Ca^{2+} concentration