

На правах рукописи



Шангин Станислав Владимирович

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ АГОНИСТОВ И
АНТАГОНИСТОВ ШАПЕРОНА SIGMA1R НА
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ, ЗАВИСИМЫЕ ОТ ГАМК_A
РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Научный руководитель:

Вахитова Юлия Венеровна – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник лаборатории химии лекарственных субстанций НИИ трансляционной медицины

Официальные оппоненты:

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», научный руководитель Центра геномных исследований мирового уровня «Центр предиктивной генетики, фармакогенетики и персонализированной терапии»

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, директор НИИ Фармакологии живых систем

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «28» апреля 2026 года в 15.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.02 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» Министерства образования и науки Российской Федерации (125315, Москва, Балтийская ул. д.8).

Отзывы на автореферат направлять по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д.8, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д.8 и на сайте www.academpharm.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.183.02**



кандидат биологических наук

Васильева Екатерина Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. ГАМК_A рецепторы – основные рецепторы центральной нервной системы, опосредующие быструю тормозную нейротрансмиссию эндогенного агониста – γ-аминомасляной кислоты (ГАМК). Связывание ГАМК с ортостерическим сайтом рецептора индуцирует конформационные изменения аминокислотных остатков субъединиц, что сопровождается открытием анионного канала, входящим током ионов Cl⁻, гиперполяризацией мембраны и снижением возбудимости нервной ткани. В структуре ГАМК_A рецепторов, кроме двух ортостерических сайтов, имеется ряд аллостерических сайтов, связывание лигандов с которыми потенцирует рецепцию ГАМК за счет различных механизмов (Ghit A. et al. // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2021. Vol. 19. № 1. P. 123). Благодаря наличию аллостерических сайтов ГАМК_A рецепторы являются мишенями действия многих лекарственных средств, таких как бензодиазепиновые анксиолитики, общие анестетики, антиконвульсанты, снотворные, аналоги нейростероидов с анксиолитическим и антидепрессивным действием (Sieghart W. // *Advances in pharmacology*. 2015. Vol. 72. P. 53-96).

Отметим, что, несмотря на довольно интенсивные исследования физиологии и патофизиологии ГАМК_A рецепторов, многие аспекты их функционирования остаются нераскрытыми. Например, актуальным представляется изучение механизмов, способствующих нормализации ГАМК_A рецепции при ее нарушениях, а также поиск подходов к регуляции функциональной активности и модуляции фармакологических эффектов, опосредованных ГАМК_A рецепторами.

Sigma1R – лиганд-активируемый шаперон, регулирующий функциональную активность многих мембранных и внутриклеточных белков, процессы Ca²⁺-сигналикации, фолдинга белков, ответ на стресс эндоплазматического ретикула (Hayashi T., Su T.P. // *Cell*. 2007. Vol. 131. № 3. P. 596-610). Благодаря шаперонной функции Sigma1R при лигандной активации транслоцируется в область плазматической мембраны и за счет белок-белковых взаимодействий регулирует функциональную активность многих белков, в числе которых: ионные каналы (потенциал-зависимые Na⁺-, K⁺-, Ca²⁺-каналы), рецепторы (NMDA, nACh, mACh, ASIC1, TrkB, CB1R, D₁R, D₂R), транспортеры (DAT), ферменты, компоненты путей передачи внутриклеточных сигналов, белки-адаптеры, белки-скаффолды (Su T.P. et al. // *Trends in pharmacological sciences*. 2016. Vol. 37. № 4. P. 262-278). Накапливаются сведения о зависимости основного фармакологического действия многих нейротропных лекарственных препаратов (антидепрессанты, нейролептики, анальгетики, противосудорожные средства) от взаимодействия с Sigma1R, что актуализирует значимость шаперона как регулятора активности фармакологически значимых мишеней (Voronin M.V. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. № 19. P. 7088; Eskandari K. et al. // *Pharmaceuticals*. 2025. Vol. 18. № 5. P. 700).

Совокупность клеточных функций Sigma1R позволяет предположить участие шаперона в регуляции активности ГАМК_A рецепторов и фармакологических эффектов, реализуемых посредством рецепторов этого типа.

Степень разработанности темы. В многочисленных исследованиях, посвященных изучению ГАМК_A рецепторной нейротрансдукции, установлено, что различные по природе стрессовые факторы вызывают снижение аффинности лигандов к ортостерическим и аллостерическим сайтам ГАМК_A рецепторов, а также накопление белковых субъединиц рецептора с нарушенной нативной конформацией (Skilbeck K.J., Johnston G.A.R., Hinton T. // *Journal of neurochemistry*. 2010. Vol. 112. № 5. P. 1115-1130). Клинически значимыми представляются данные о снижении связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A рецепторов при стрессовых воздействиях, механизмы формирования которого на данный момент не раскрыты (Lippa A.S. et al. // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1978. Vol. 9. № 6. P. 853-856). В фармакогенетических исследованиях установлено, что препарат фабомотизол, не являющийся лигандом ГАМК_A рецепторов, предотвращал падение бензодиазепинового связывания в мозге инбредных и беспородных животных (Середенин С.Б. и др. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2001. Т. 64. № 1. С. 63-65). В поведенческих тестах, моделирующих эмоционально-стрессовое воздействие, установлено, что анксиолитические свойства фабомотизола зависят от Sigma1R (Voronin M.V. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. № 11. P. 5455), что согласуется с выявленным ранее предотвращением стресс-индуцированного снижения бензодиазепинового связывания ГАМК_A рецептора при действии фабомотизола (Яркова М.А. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2011. Т. 74. № 8. С. 3-7).

На данный момент имеются лишь единичные работы, посвященные исследованию возможной функциональной взаимосвязи ГАМК_A рецепторов и шаперона Sigma1R. В частности, показано, что Sigma1R модулирует высвобождение ГАМК, транспорт ГАМК на пресинаптическом уровне и активность ГАМК_A рецепторов (Pozdnyakova N. et al. // *Experimental Neurology*. 2020. Vol. 333. P. 113434). Продемонстрировано также, что действие антагониста Sigma1R NE-100 сопровождается снижением экспрессии субъединиц $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 2$ и $\beta 3$ ГАМК_A рецепторов в прилежащем ядре мышей и нарушениями механизмов нейропластичности (Qin Y. et al. // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2022. Vol. 15. P. 959224). Таким образом, комплекс исследований по установлению вклада шаперона в механизмы действия лиганда Sigma1R фабомотизола, а также литературные данные о регуляции Sigma1R функциональной активности рецепторов нейромедиаторов, участии в механизмах действия нейротропных лекарственных средств, послужили основой для экспериментального изучения роли Sigma1R в опосредовании фармакологических эффектов лигандов ГАМК_A рецепторов.

Цель исследования. Выявить зависимость фармакологических эффектов, опосредуемых ГАМК_A рецептором, от активности шаперона Sigma1R в условиях моделирования *in vivo*.

Задачи исследования:

1. Оценить эффекты агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пентилентетразола.

2. Изучить влияние агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола и антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность положительного аллостерического модулятора бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецептора диазепама в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пентилентетразола.

3. Исследовать влияние агониста Sigma1R фабомотизола на скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга у мышей.

4. Изучить эффекты агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A рецептора бикикуллина.

5. Изучить эффекты агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A рецептора пикротоксина.

6. Исследовать влияние агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола и антагониста Sigma1R BD-1047 на фармакологический эффект, опосредованный активацией барбитурового сайта ГАМК_A рецептора, на модели пентобарбиталового сна у мышей.

7. Изучить эффекты агониста Sigma1R PRE-084 и антагониста Sigma1R BD-1047 на анксиолитическое и антидепрессивное действие аллостерических модуляторов нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона на мышцах в тесте приподнятый крестообразный лабиринт и тесте подвешивания за хвост.

Научная новизна. Экспериментально доказана зависимость фармакологических эффектов аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов от активности шаперона Sigma1R. Установлено ингибирующее действие антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную, снотворную, анксиолитическую и антидепрессивную активность положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов. Показано, что агонисты Sigma1R PRE-084 и фабомотизол обладают способностью усиливать фармакологические эффекты диазепама, пентобарбитала. Агонист Sigma1R PRE-084 усиливает эффекты аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона. В моделях судорог, вызванных влиянием антагонистов аллостерического (пентилентетразол) и ортостерического (биккуллин) сайтов

связывания ГАМК, а также блокатором хлорных каналов ГАМК_A рецепторов (пикротоксин) установлено противосудорожное действие фабомотизола, обусловленное агонистической активностью в отношении Sigma1R. Показана способность фабомотизола снижать скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установленное модулирующее влияние агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависящие от ГАМК_A рецепторного комплекса, позволяет расширить понимание фармакологических свойств и механизмов действия как модельных лигандов Sigma1R, так и лекарственных средств, взаимодействующих с шапероном. Полученные данные о противосудорожных свойствах фабомотизола и механизмах его противосудорожного действия дают основание для расширения показаний к применению препарата для фармакотерапии отдельных форм эпилепсии. Продемонстрирована возможность фармакологической коррекции седативно-снотворных эффектов пентобарбитала при действии антагониста Sigma1R, что может найти применение в клинической практике при купировании передозировок барбитуратами. Способность агонистов Sigma1R усиливать антидепрессивную и анксиолитическую активность нейростероидов указывает на целесообразность разработки комбинированных препаратов на их основе.

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования основывается на анализе данных литературы и степени разработанности данной темы, постановке цели и задач исследования с дальнейшей экспериментальной оценкой *in vivo* с использованием методологии, релевантной цели и задачам исследования. Для достижения целей исследования использовался комплекс методов, включающий фармакологические подходы и модельные эксперименты, что позволило успешно решить все поставленные задачи. Дизайн исследования включает три основных этапа: исследование модулирующего влияния лигандов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависящие от бензодиазепинового, барбитурового, нейростероидного сайтов связывания ГАМК_A рецептора, а также от ортостерического и ионного сайтов связывания в условиях *in vivo*.

Исследования эффектов, зависящих от бензодиазепинового сайта связывания, проводили с использованием лигандов Sigma1R – BD-1047 (антагонист), PRE-084 (агонист) и фабомотизола (агонист) на моделях судорог, индуцированных пентилентетразолом (PTZ), биккуллином (BIC) и пикротоксином (PIC), а также при киндлинге, индуцированным введением субконвульсивных доз PTZ. Влияние исследуемых лигандов Sigma1R оценивали в модели индуцированного пентобарбиталом сна, что позволило выявить зависимость модуляции барбитурового сайта ГАМК_A рецептора от активности шаперона Sigma1R. Действие BD-1047 и PRE-084 исследовано также в тестах подвешивания за хвост и приподнятый крестообразный лабиринт на фоне действия аллопрегнанола и

изоаллопрегнанолонa, что позволило определить эффекты, зависящие от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецепторов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Собственное противосудорожное действие фабомотизола, опосредованное агонистической активностью в отношении Sigma1R, в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пентилентетразола.
2. Усиление противосудорожной активности положительного аллостерического модулятора ГАМК_A рецептора диазепама агонистами Sigma1R PRE-084 и фабомотизолом и ослабление этой активности антагонистом Sigma1R BD-1047 на острой модели судорог, вызванных внутривенным введением пентилентетразола.
3. Снижение скорости развития фармакологически индуцированного киндлинга агонистом Sigma1R фабомотизолом в дозе 20 мг/кг.
4. Противосудорожное действие фабомотизола, опосредованное агонистической активностью в отношении Sigma1R, в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением бикикуллина.
5. Противосудорожное действие фабомотизола, опосредованное агонистической активностью в отношении Sigma1R, в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пикротоксина.
6. Усиление снотворного действия пентобарбитала агонистами Sigma1R PRE-084 и фабомотизолом в дозах 5 мг/кг и снижение этого эффекта антагонистом Sigma1R BD-1047 в дозе 1 мг/кг.
7. Усиление анксиолитического и антидепрессивного действия аллостерических модуляторов ГАМК_A рецептора аллопрегнанолонa и изоаллопрегнанолонa агонистом Sigma1R PRE-084 и снижение выраженности эффектов нейростероидов антагонистом Sigma1R BD-1047.

Степень достоверности и апробация результатов. Исследования планировали на основе теоретического анализа научной проблемы. Достоверность полученных в исследовании результатов базируется на использовании валидных методов исследования, репрезентативных экспериментальных выборок, адекватных критериев оценки типа распределения первичных экспериментальных данных с целью обоснованного применения соответствующих методов описательной статистики и комплекса параметрических и непараметрических критериев статистического анализа. Экспериментальные данные проверялись на сходимость и воспроизводимость.

Апробация материалов диссертации. Материалы диссертационной работы были представлены на 36 конгрессе европейского колледжа нейропсихофармакологии (36th ECNP Congress, Барселона, Испания, 2023) и 37 конгрессе европейского колледжа

нейропсихофармакологии (37th ECNP Congress, Милан, Италия, 2024), академическом форуме молодых ученых «Большая Евразия. Континент науки» (Москва, 2023), VI Съезде фармакологов России (Клязьма, 2023), 27-й Международной школе-конференции молодых ученых «Биология–наука XXI века» (Пушино, 2024), XX Международном междисциплинарном конгрессе нейронаука для медицины и психологии (Судак, 2024), III Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2024), IX Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Сыктывкар, 2024), 28-й Международной школе-конференции молодых ученых «Биология–наука XXI века» (Пушино, 2025).

Личный вклад автора состоит в разработке дизайна исследования, проведении всех экспериментов, анализе и обработке полученных результатов. Автором проанализирован большой объём научной литературы по теме диссертационной работы. Автор принимал непосредственное участие во всех этапах исследования, осуществлял статистическую обработку, визуализацию, обобщение экспериментальных данных, подготовку рукописей публикаций и рукописи диссертации.

Публикации по теме работы. По материалам диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, из которых 5 - статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в РИНЦ.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 196 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных результатов, заключения и выводов. Содержит 15 таблиц и 33 рисунка. Список литературы включает 382 источника, из них 6 отечественных и 376 англоязычных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Реактивы: при выполнении экспериментальной работы использовали следующие лиганды Sigma1R: BD-1047 hydrobromide, PRE-084 hydrochloride, фабомотизол. В исследованиях влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от бензодиазепинового сайта связывания ГАМК_A рецептора, использовались следующие реактивы: диазепам, полиэтилен гликоль 400, пентилентетразол (PTZ), бикикуллин (BIC), пикротоксин (PIC), диметилсульфоксид; зависимые от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора: пентобарбитал натрия; зависимые от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора: изоаллопрегнанолон ацетат (ISO), аллопрегнанолон (ALLO), метилен хлористый, масло кукурузное.

Экспериментальные животные: Животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных

биомедицинских и фармацевтических технологий» (температура 20 – 22 °С, влажность 30 – 70 %, 12-часовой цикл свет/темнота) в пластиковых клетках с подстилкой из опилок по 6 – 12 особей в клетке с доступом к корму и воде *ad libitum*. Эксперименты проводили во время световой фазы с 9.00 до 16.00. Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с нормами обращения с животными на основе стандартных операционных процедур и международных правил (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/ЕЕС)). Экспериментальные процедуры одобрены комиссией по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протоколы №9, 3 и 13 от 29.10.22, 31.01.2023 и 11.10.24 г. соответственно).

Моделирование острых судорог у мышей: для внутривенного введения PTZ, ВИС или РС экспериментальных животных помещали в прозрачный бокс из плексигласа с отверстиями, обеспечивающими вентиляцию, удерживание за хвост и доступ к боковой хвостовой вене. Иглу 27G с подсоединенной инфузионной канюлей вводили в боковую хвостовую вену, предварительно прогрев место введения инфракрасной лампой в соответствии с рекомендациями (Greenfield E.A. // Cold Spring Harbor Protocols. 2017. Vol. 2017. № 11. P. pdb.prot100271). PTZ, ВИС или РС вводили с постоянной скоростью с использованием контроллера и шприцевого насоса. Порог судорог определяли в соответствии с минимальной дозой PTZ, ВИС или РС, вызывающей судороги. Введение прекращали в момент начала генерализованных тонических судорог. Клонические подергивания (КП), генерализованные клонические судороги (ГКС) и генерализованные тонические судороги (ГТС) регистрировали с помощью видеокамеры и оценивали в соответствии с ранее описанными критериями (Van Erum J. et al. // Epilepsy & Behavior. 2019. Vol. 95. P. 51-55).

Моделирование пентилентетразолового киндлинга: тестирование проводили в соответствии с ранее описанной методикой (Dhir A. // Current protocols in neuroscience. 2012. Vol. 58. № 1. P. 9.37.1-9.37.12). PTZ вводили в субконвульсивной дозе 30 мг/кг внутривентриально через день, начиная с первого дня эксперимента. Продолжительность эксперимента составила 24 дня, в течение которых тестирование проводили 12 раз. Возникновение лимбических судорог регистрировали с использованием видеокамеры в течение 60 мин после введения PTZ. Судорожный порог определяли в соответствии со шкалой Расина, модифицированной Ицхаком и Мартином (Racine R.J. // Electroencephalography and clinical neurophysiology. 1972. Vol. 32. № 3. P. 281-294).

Моделирование сна, вызванного пентобарбиталом: пентобарбитал натрия вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг через 60 минут после первой инъекции. После введения пентобарбитала последовательно регистрировали время засыпания и продолжительность сна. Время засыпания определяли по потере рефлекса выпрямления, а продолжительность сна регистрировали с момента засыпания до момента восстановления спонтанного рефлекса

выпрямления. Сразу после введения пентобарбитала мышей помещали в индивидуальные прозрачные контейнеры из оргстекла с отверстиями для вентиляции.

Тест подвешивания за хвост проводили в соответствии со стандартным протоколом (Can A. et al. // Journal of visualized experiments: JoVE. 2012. № 59. P. 3769). Измерения проводили на аппарате «BIO-TST4». Для подвешивания мышей использовали липкую ленту, которую крепили в область середины хвоста. В течение 6 минут регистрировали время иммобильности (с) посредством анализа видеочасти (для экспериментов с ALLO) или регистрации показаний тензодатчика аппарата (для экспериментов с ISO).

Тест приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ): для адаптации мышей перемещали в комнату для тестирования поведения за 30 минут до начала первого введения соединений. Тест приподнятый крестообразный лабиринт проводили на установке «Open Science» в соответствии со стандартным протоколом (Komada M. et al. // Journal of visualized experiments: JoVE. 2008. № 22. P. 1088). Первичные экспериментальные данные рассчитывали согласно (File S.E. // Behavioural brain research. 2001. Vol. 125. № 1-2. P. 151-157).

Статистическая обработка результатов. Для расчета размеров выборки использовали анализ статистической мощности. Распределение экспериментальных данных анализировали с использованием тестов Д'Агостино–Пирсона и Шапиро–Уилка. Статистическую значимость определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим сравнением по Даннету или Шидаку. При оценке судорожного порога в модели пентилентетразолового киндлинга применяли критерий Манна–Уитни. Для анализа дозовой зависимости использовали ANOVA «тест тренда». Статистическая значимость в тестах подвешивание за хвост и ПКЛ оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа с множественным сравнением по Даннету, двухфакторного ANOVA с множественным сравнением по Шидаку, критерия Краскела Уоллиса с множественным сравнением по Данну. Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым. Статистический анализ и визуализацию проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 10.5.0 для Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

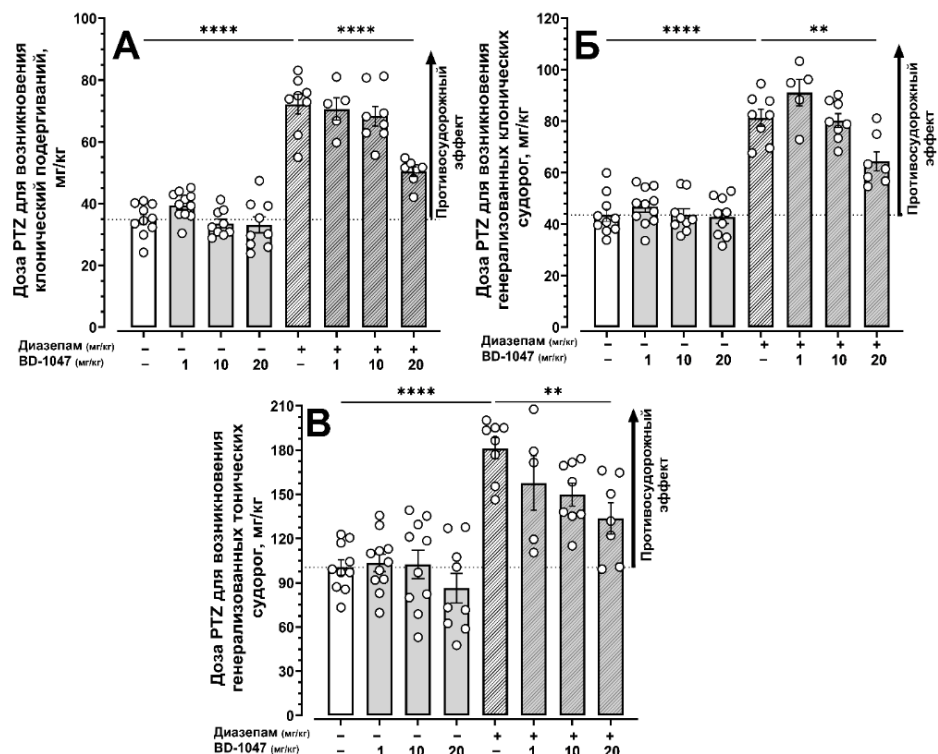
Оптимизация условий экспериментальных моделей, индуцированных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии

В эксперименте по подбору условий экспериментальной модели судорог определяли оптимальные параметры скорости внутривенного введения и концентрации PTZ. Показано, что при введении 1% PTZ (10 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с достоверное увеличение судорожного порога на фоне введения диазепама (0,5 мг/кг) обнаруживалось во всех регистрируемых параметрах. На основании полученных данных было выбрано введение 1%

раствора PTZ со скоростью 6 мкл/с. При определении оптимальной дозы диазепама (0,5-1 мг/кг) установлено дозозависимое увеличение судорожного порога на всех стадиях судорожных проявлений. Максимальный противосудорожный эффект зарегистрирован при дозе 1 мг/кг (повышение порога на 59,5–82,5% от контроля), которая была выбрана для последующих исследований. В эксперименте по подбору условий экспериментальной модели судорог, вызванных PIC и VIC, тестировались концентрации 0,2–0,4% PIC, концентрации 0,01–0,02% VIC и скорости введения 6–12 мкл/с. Оптимальными параметрами определены: концентрация PIC 0,4%, скорость 6 мкл/с; концентрация VIC 0,02%, скорость 6 мкл/с. Предварительное введение диазепама (1 мг/кг) в этих условиях оказывало значимый противосудорожный эффект.

Влияние лигандов Sigma1R на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом, оценка их собственного противосудорожного и просудорожного действия

Внутривенное введение PTZ контрольным группам мышей вызывало КП и ГКС при дозах 35-52 мг/кг и ГТС при дозах 68-100 мг/кг. Антагонист Sigma1R BD-1047 (1-20 мг/кг) и агонист PRE-084 (5-20 мг/кг) не обладали собственным просудорожным или противосудорожным действием (рисунок 1 и 2).

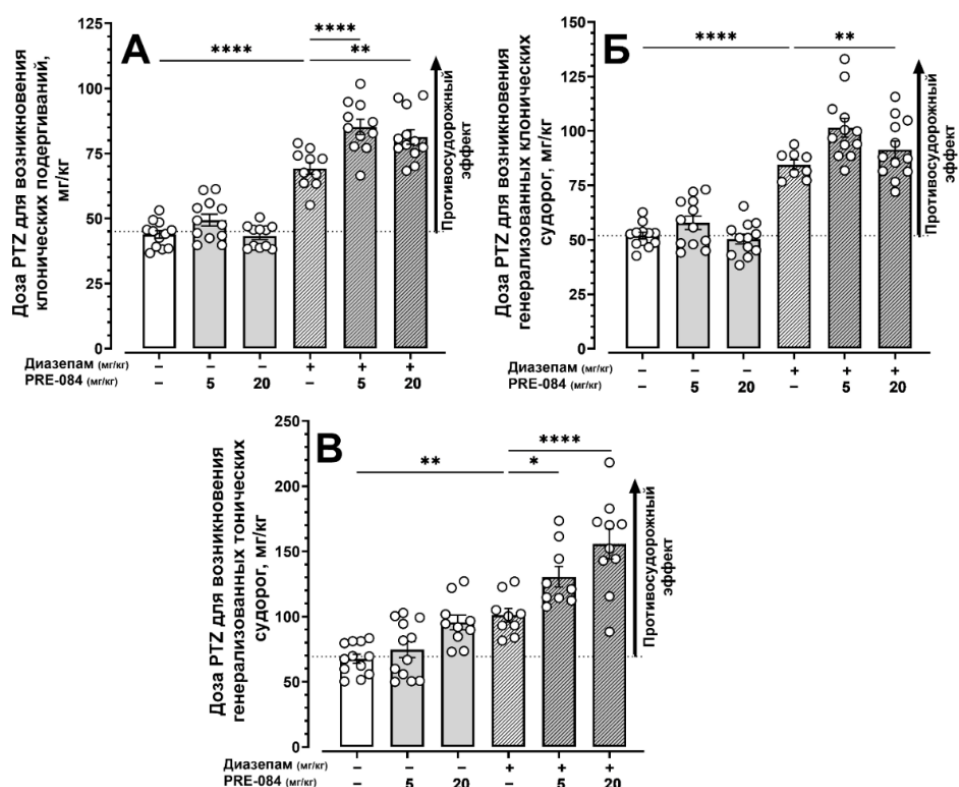


Примечание – пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. BD-1047 вводили в/б за 90 минут до введения PTZ. Диазепам (1 мг/кг) вводили в/б за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M.

Рисунок 1 – Влияние селективного антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных PTZ

Диазепам (1 мг/кг) повышал порог возникновения КП в 2,9 раза, ГКС и ГТС – в 1,8 раза ($p < 0,0001$). Предварительное введение BD-1047 дозозависимо снижало противосудорожный эффект диазепама: для клонических подергиваний – в 2 раза ($p < 0,0001$ при 20 мг/кг), для генерализованных клонических и тонических судорог – на 21% и 26% соответственно ($p < 0,01$) (рисунок 1).

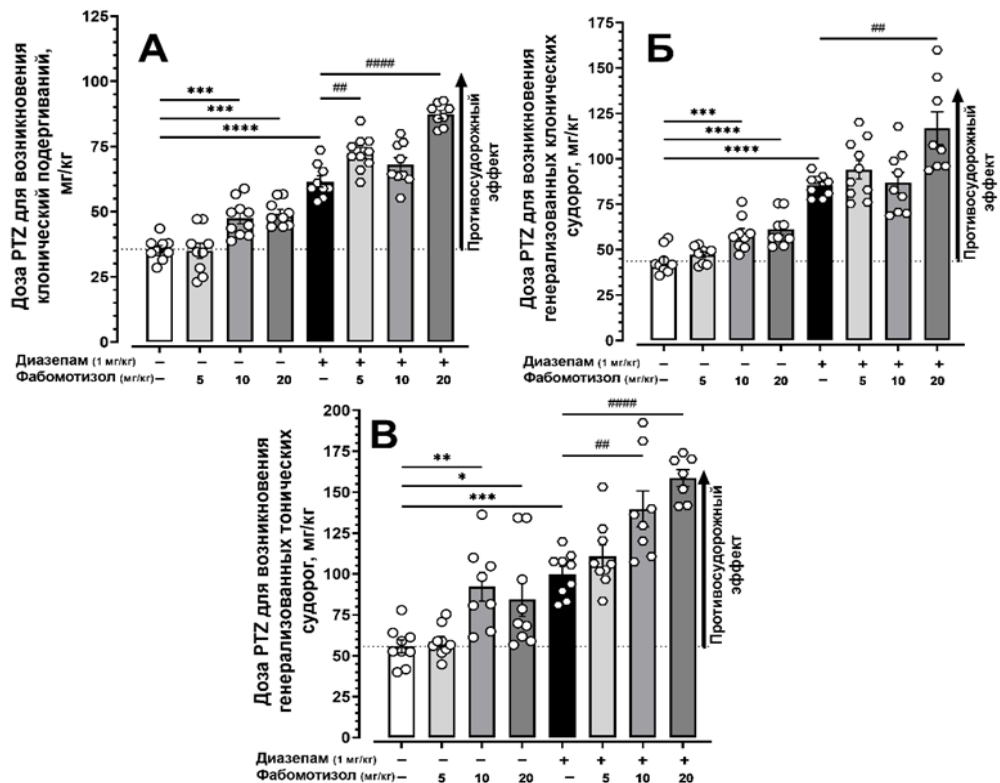
Агонист Sigma1R PRE-084 (5 мг/кг) усиливал противосудорожный эффект диазепама, повышая порог КП на 23% ($p < 0,0001$), ГКС – на 20% ($p = 0,004$), ГТС – на 29% ($p = 0,03$). При дозе 20 мг/кг PRE-084 усиливал эффект диазепама преимущественно в отношении ГТС (на 54%; $p < 0,0001$) (рисунок 2).



Примечание – пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. PRE-084 вводили в/б за 90 минут до введения PTZ. Диазепам (1 мг/кг) вводили в/б за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M.

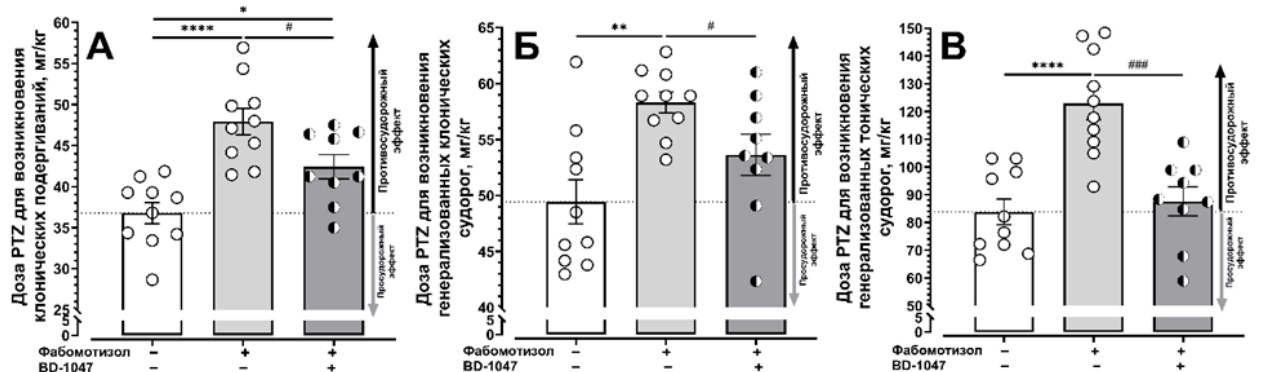
Рисунок 2 – Влияние селективного агониста Sigma1R PRE-084 на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных PTZ

Фабомотизол (10-20 мг/кг) дозозависимо повышал порог всех типов судорог на 33–65% ($p < 0,001$), что свидетельствует о противосудорожной активности препарата. В дозе 20 мг/кг фабомотизол усиливал эффект диазепама в отношении всех типов судорог (на 37-59%; $p < 0,0001$) (рисунок 3). Предварительное введение BD-1047 (20 мг/кг) снижало противосудорожное действие фабомотизола на 8–29% ($p < 0,05$ – $p < 0,001$), что свидетельствует об опосредованности эффекта шапероном Sigma1R (рисунок 4).



Примечание – пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. Фабомотизол вводили в/б за 90 минут до введения PTZ. Диазепам (1 мг/кг) вводили в/б за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M.

Рисунок 3 – Влияние агониста Sigma1R фабомотизола на противосудорожную активность диазепам в модели судорог, вызванных PTZ



Примечание – пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. Фабомотизол и BD-1047 вводили в дозе 20 мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

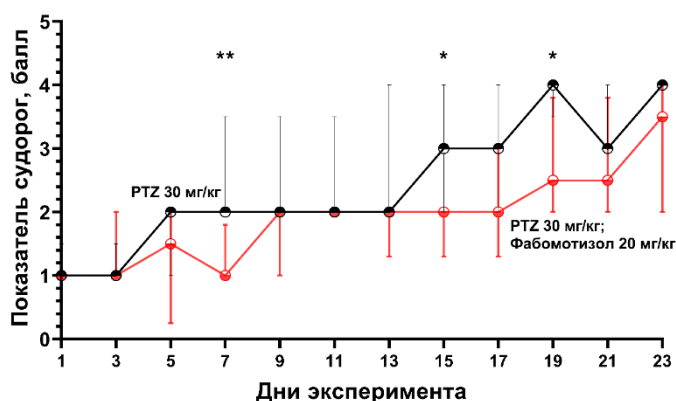
Рисунок 4 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабомотизола на модели пентилентетразоловых судорог у мышей

Полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о вкладе шаперона Sigma1R в регуляцию фармакологических эффектов, зависимых от ГАМК_A-рецепторов. Способность фабомотизола проявлять Sigma1R-зависимую противосудорожную активность позволяет предполагать возможность комбинированной терапии отдельных форм эпилепсии на основе агонистов Sigma1R и противосудорожных препаратов.

Влияние агониста Sigma1R фабомотизола на скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга

Фармакологический киндлинг моделировали путём повторных внутрибрюшинных введений (каждые 48 часов) субконвульсивных доз PTZ (30 мг/кг). Выраженность судорожных реакций оценивали по 4-балльной шкале: от 0 (нормальное поведение) до 4 баллов (генерализованные клонические припадки с падением).

Показано, что фабомотизол (20 мг/кг) ослаблял судорожные реакции животных, что проявлялось в повышении судорожного порога, достигая статистической значимости на 7-й ($p = 0,0067$), 15-й ($p = 0,035$) и 19-й день эксперимента ($p = 0,036$). К десятому введению PTZ на фоне действия фабомотизола генерализованные судорожные реакции (4 балла) регистрировались лишь у 25% животных, тогда как в контрольной группе — у 78% мышей (рисунок 5).



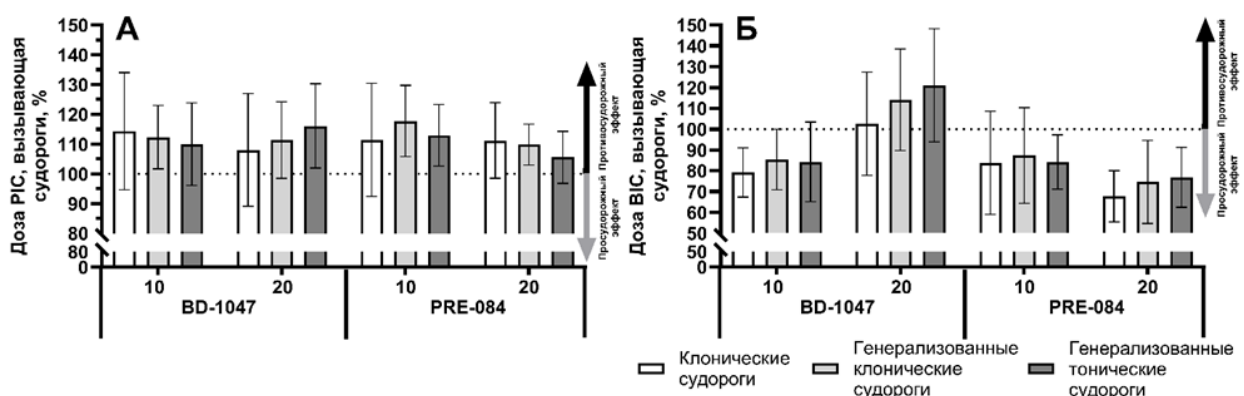
Примечание – судорожный порог регистрировали в соответствии со шкалой Расина, модифицированной Ицхаком и Мартином.

Рисунок 5 – Влияние фабомотизола на развитие киндлинга, индуцированного PTZ

Таким образом, фабомотизол продемонстрировал выраженную противосудорожную активность в модели фармакологического киндлинга. Полученные данные свидетельствуют о способности агониста Sigma1R не только снижать судорожные проявления, но и, возможно, модифицировать процесс эпилептогенеза. Выявленные эффекты подтверждают перспективность дальнейшего изучения фабомотизола в качестве противосудорожного средства.

Изучение влияния агонистов Sigma1R - PRE-084 и фабомотизола и антагониста BD-1047 на пороги судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина и антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикуккуллина

На модели острых судорог, индуцированных внутривенным введением ВИС и РС показано, что лиганды Sigma1R PRE-084 и BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не влияли на пороги судорожных реакций, что указывает на отсутствие собственной про- или противосудорожной активности (рисунок 6).



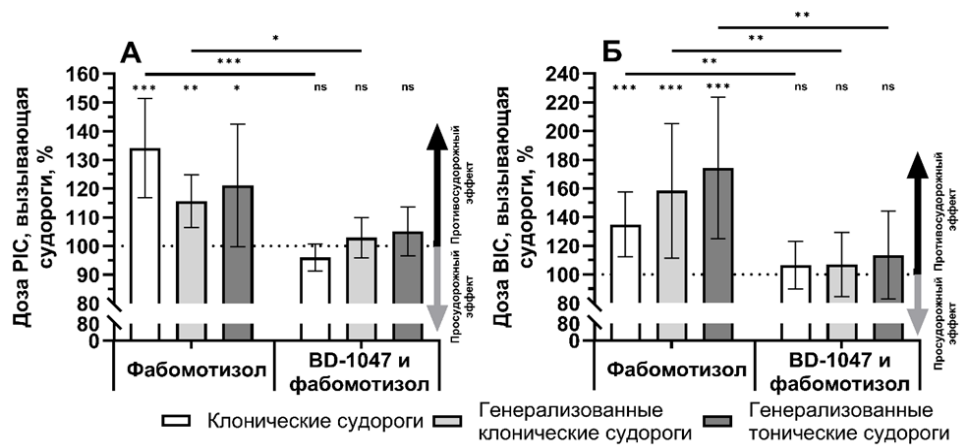
Примечание – пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PIC (А) и BIC, в контрольной группе (100%). Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

Рисунок 6 – Влияние лигандов Sigma1R PRE-084 и BD-1047 на пороги судорог, вызванных внутривенным введением PIC и BIC

Показано, что на фоне внутривенной инфузии PIC или BIC предварительное введение фабомотизола экспериментальным животным вызывало противосудорожный эффект для каждого из регистрируемых параметров судорог (рисунок 6). Так, при введении PIC препарат увеличивал пороговые значения для КП на 34.16% ($p = 0,0005$), для ГКС – на 15.56% ($p = 0,006$), для ГТС – на 21.1% ($p = 0,02$). Противосудорожное действие фабомотизола снижалось при предварительном введении селективного антагониста Sigma1R BD-1047: при развитии КП – на 28.4% ($p = 0,0001$), ГКС – на 11% ($p = 0,027$) и ГТС на 13.18%. При введении BIC действие фабомотизола приводило к увеличению пороговых значений для КП на 34.16% ($p = 0,0002$), для ГКС – на 58.3% ($p = 0,0007$), для ГТС – на 74.3% ($p = 0,0002$). Противосудорожный эффект фабомотизола статистически значимо снижался при предварительном введении антагониста Sigma1R BD-1047: при развитии КП на 25.8% ($p = 0,002$), ГКС на 47.7%, ($p = 0,003$) и ГТС на 53.3% ($p = 0,002$) (рисунок 7).

Противосудорожное действие фабомотизола оказалось более выраженным при судорогах, вызванных конкурентным антагонистом ГАМК_A-рецепторов BIC по сравнению с блокатором хлорного канала PIC.

Таким образом, полученные данные демонстрируют, что противосудорожный эффект фабомотизола на модели бикикуллиновых и пикротоксиновых судорог опосредуется агонистической активностью в отношении Sigma1R. Эти результаты согласуются с полученными ранее данными на моделях судорог, вызванных введением PTZ.

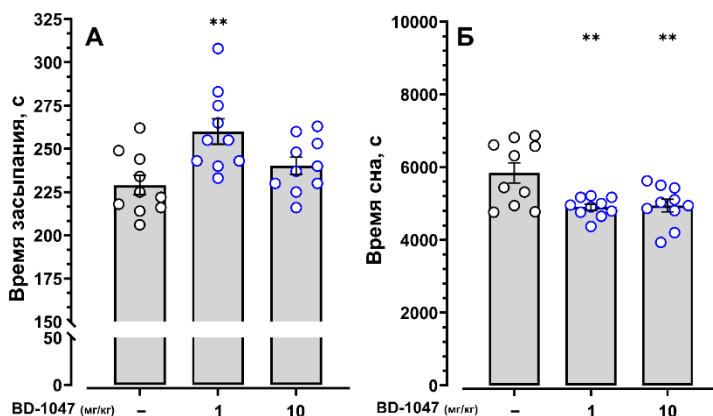


Примечание – пунктирная линия обозначает порог возникновения судорог, вызванных PIC (А) и VIC (Б), в контрольной группе (100 %). Фабомотизол и BD-1047 вводили в дозе 20 мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

Рисунок 7 – Влияние антагониста Sigma1R BD 1047 на противосудорожную активность фабомотизола на модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением PIC и VIC

Исследование влияния лигандов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредованные активацией барбитурового сайта ГАМК_A рецептора

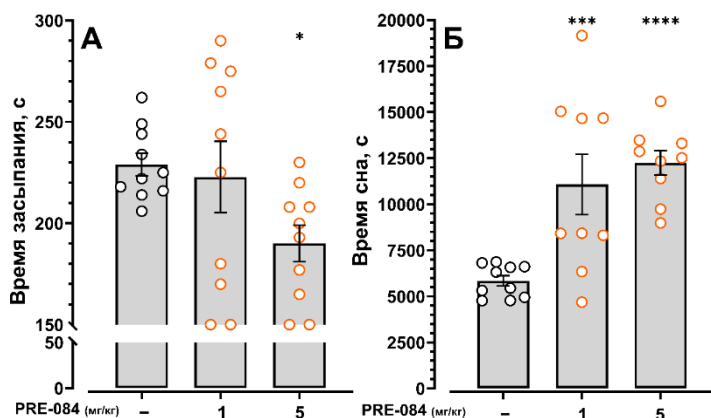
Антагонист Sigma1R BD-1047 в дозе 1 мг/кг предотвращал снотворный эффект пентобарбитала, статистически значимо увеличивая время засыпания (рисунок 8А) и сокращая продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом (рисунок 8Б). В дозе 10 мг/кг BD-1047 статистически значимо сокращал только продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом (рисунок 8Б).



Примечание – данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

Рисунок 8 – Влияние селективного антагониста Sigma1R BD-1047 на сон, вызванный пентобарбиталом

Введение агониста Sigma1R PRE-084 в дозе 1 мг/кг усиливало действие пентобарбитала, статистически значимо увеличивая продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом (рисунок 9Б), но, не влияя на время засыпания (рисунок 9А). Увеличение дозы PRE-084 до 5 мг/кг приводило к статистически значимому сокращению времени засыпания (рисунок 9А) и увеличению продолжительности сна, вызванного пентобарбиталом (рисунок 9Б).

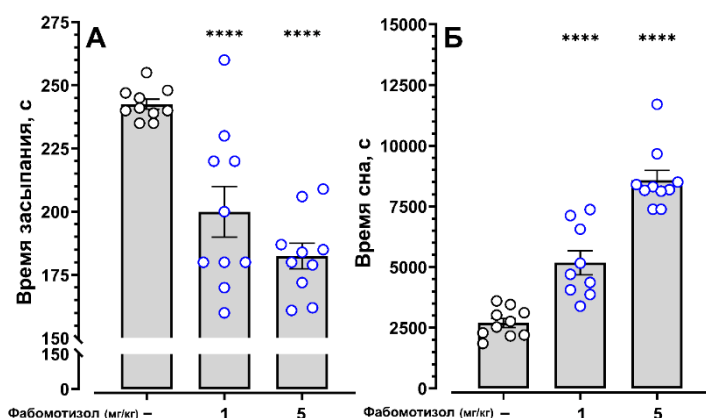


Примечание – данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

Рисунок 9 – Влияние селективного агониста Sigma1R PRE-084 на сон, вызванный пентобарбиталом

Агонист Sigma1R фабомотизол в дозах 1 и 5 мг/кг усиливал действие пентобарбитала, статистически значимо увеличивая продолжительность сна (рисунок 10Б) и влиял на время засыпания, уменьшая его продолжительность (рисунок 10А). Увеличение дозы до 5 мг/кг привело к большему, нежели при введении дозы 1 мг/кг, статистически значимому сокращению времени засыпания (на 32,9%) (рисунок 10А) и увеличению продолжительности сна, вызванного пентобарбиталом, более чем в 3 раза (рисунок 10Б).

Таким образом, полученные результаты свидетельствует, что агонисты Sigma1R PRE-084 и фабомотизол усиливают снотворный эффект пентобарбитала, тогда как антагонист Sigma1R BD-1047 снижает его.



Примечание – данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего.

Рисунок 10 – Влияние селективного агониста Sigma1R фабомотизола на сон, вызванный пентобарбиталом

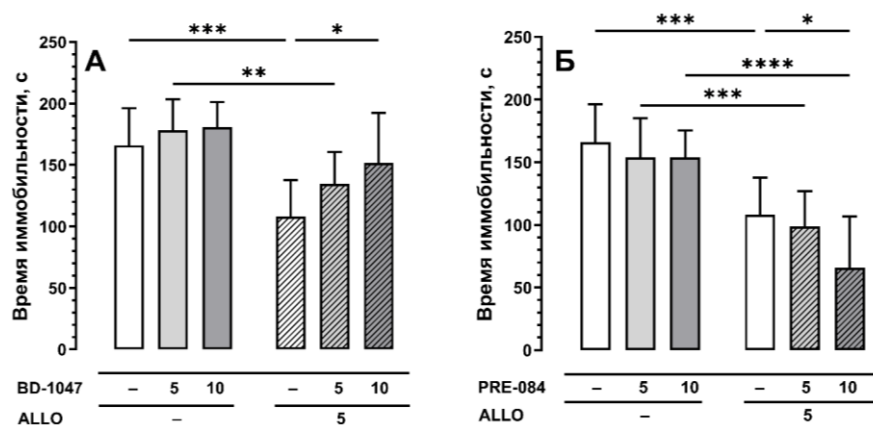
Исследование влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависмые от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора

Влияние ALLO и ISO на депрессивно-подобное поведение мышей в тесте подвешивания за хвост: было воспроизведено антидепрессивное действие ALLO, которое носило дозозависимый характер ($p = 0,0024$). По сравнению с контрольной группой ALLO в диапазоне доз 2,5–10 мг/кг снижал время иммобильности, достигая наибольшей

выраженности эффекта в дозе 5 мг/кг (снижение на 39%). ISO, являющийся стереоизомером и эндогенным метаболитом ALLO, в диапазоне доз 1–20 мг/кг также дозозависимо ($p < 0,0001$) снижал время иммобильности мышей. Минимальная эффективная доза ISO составила 10 мг/кг (снижение на 40%). Во всех экспериментах поведение мышей, получавших растворитель, не отличалось от поведения интактных животных. ISO в дозе 10 мг/кг вызывал значительное увеличение энергии движений на 206% ($p = 0,008$) и силы движений на 320% ($p = 0,002$) по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на то, что ISO обладает не только антидепрессивным, но и психостимулирующим действием. При этом более высокая доза 20 мг/кг оказалась менее эффективной по данным показателям, что может свидетельствовать о седативном компоненте действия в более высоких концентрациях.

Таким образом, результаты эксперимента позволили установить эффективные дозы ALLO (5 мг/кг) и ISO (10 мг/кг), которые использовались в последующих экспериментах с лигандами Sigma1R в тесте подвешивания за хвост.

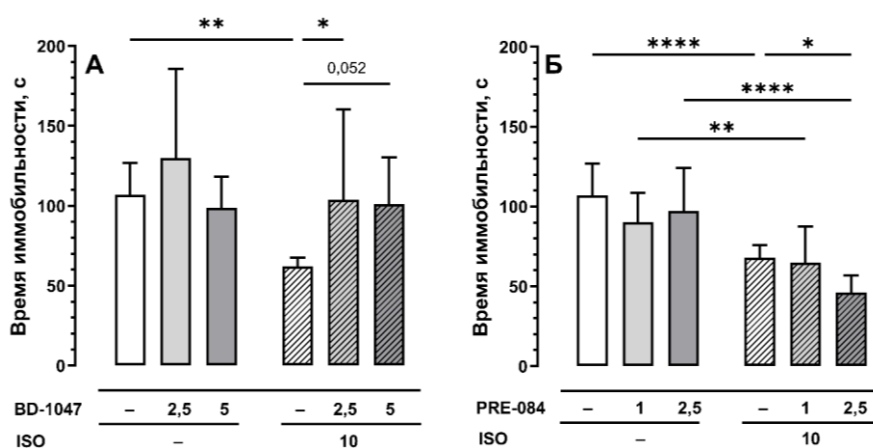
Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ALLO и ISO в тесте подвешивания за хвост: показано, что ни агонист Sigma1R PRE-084 (1–10 мг/кг), ни антагонист Sigma1R BD-1047 (2,5–10 мг/кг) не изменяли параметры поведения мышей в тесте подвешивания за хвост. Предварительное введение BD-1047 в дозе 10 мг/кг ослабляло антидепрессивное действие ALLO ($p = 0,014$) (рисунок 11).



Примечание – ось абсцисс: дозы BD-1047 (А), PRE-084 (Б), ALLO выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение).

Рисунок 11 – Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ALLO в тесте подвешивания за хвост

BD-1047 в меньшей дозе 2,5 мг/кг статистически значимо ослаблял действие ISO, увеличивая время иммобильности ($p = 0,044$), снижая энергию ($p < 0,0001$) и силу движений ($p = 0,002$) (рисунок 12). Введение агониста Sigma1R PRE-084 за 30 мин до введения ALLO или ISO усиливало их антидепрессивное действие, уменьшая время иммобильности (в сравнении с ALLO: $p = 0,023$; в сравнении с ISO: $p = 0,035$). ISO в дозе 10 мг/кг оказывал выраженное психостимулирующее действие, проявлявшееся в увеличении энергии и силы движений ($p < 0,0001$). BD-1047 в дозах 2,5 и 5 мг/кг значимо снижал психостимулирующую активность ISO до уровня контрольной группы.



Примечание – ось абсцисс: дозы BD-1047 (А), PRE-084 (Б), ISO выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение).

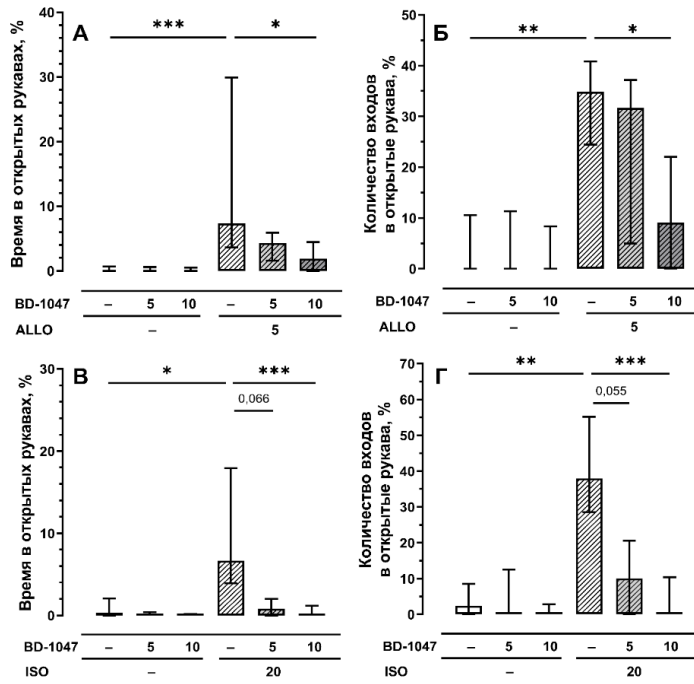
Рисунок 12 – Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ISO в тесте подвешивания за хвост

Полученные результаты доказывают роль Sigma1R в антидепрессивном действии нейростероидов ALLO и ISO: их эффекты блокируются антагонистом BD-1047 и потенцируются агонистом PRE-084. Примечательно, что для модуляции эффектов ISO, действующего в более высоких дозах, требуются меньшие дозы лигандов Sigma1R.

Эффекты ALLO и ISO на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ): показано, что ALLO в дозе 2,5 мг/кг не оказывал статистически значимого влияния на поведение мышей в тесте ПКЛ, тогда как в дозах 5 и 10 мг/кг увеличивал время нахождения в открытых рукавах (ОР) (5 мг/кг: $p = 0,003$; 10 мг/кг: $p = 0,002$) и количество заходов в ОР (5 мг/кг: $p = 0,0004$; 10 мг/кг: $p = 0,013$). ISO обладал сходным анксиолитическим действием в дозах 20 мг/кг (время нахождения в ОР: $p = 0,013$; количество заходов в ОР: $p = 0,001$) и 40 мг/кг (время нахождения в ОР: $p = 0,012$; количество заходов в ОР: $p = 0,002$). Введение растворителя не оказывало влияния на поведение животных по сравнению с интактными мышами. Для дальнейших экспериментов с лигандами Sigma1R отобраны минимальные эффективные дозы: ALLO 5 мг/кг и ISO 20 мг/кг.

Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ALLO и ISO в тесте ПКЛ: Показано, что антагонист Sigma1R BD-1047 (5 и 10 мг/кг) не влиял на поведение мышей в тесте ПКЛ. Введение BD-1047 (10 мг/кг) за 30 мин до нейростероидов блокировало их анксиолитическое действие: снижало время нахождения в ОР (ALLO: $p = 0,03$; ISO: $p = 0,0008$) и количество заходов в ОР (ALLO: $p = 0,03$; ISO: $p = 0,0006$; рисунок 13).

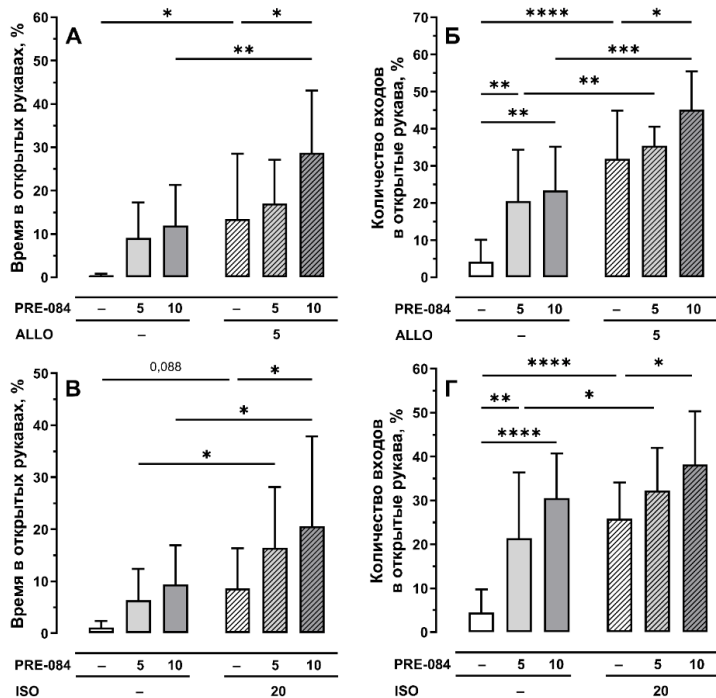
Агонист Sigma1R PRE-084 проявлял собственные анксиолитикоподобные свойства по показателю количества заходов в ОР ($p = 0,001-0,002$). PRE-084 (10 мг/кг) усиливал анксиолитическое действие ALLO по времени нахождения в ОР ($p = 0,02$) и количеству заходов в ОР ($p = 0,04$), а также ISO ($p = 0,03$ для обоих показателей). При совместном введении нейростероидов с PRE-084 эффекты значительно превышали таковые при введении только PRE-084 (рисунок 14).



Примечание – ось абсцисс: дозы ALLO (А, Б) и ISO (В, Г), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде медианы (IQR).

Рисунок 13 – Влияние ALLO и ISO на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Таким образом, продемонстрировано, что фармакологическая модуляция активности шаперона Sigma1R оказывает влияние на анксиолитические эффекты нейростероидов ALLO и ISO. Блокада Sigma1R антагонистом BD-1047 препятствует их анксиолитическому действию, тогда как активация данного шаперона агонистом PRE-084 обуславливает потенцирование анксиолитического ответа при совместном введении с указанными нейростероидами. Полученные данные согласуются с результатами теста подвешивания за хвост и подтверждают участие Sigma1R в реализации антидепрессивного и анксиолитического действия нейростероидов – положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов.



Примечания – ось абсцисс: дозы ALLO (А, Б), ISO (В, Г), PRE-084 (А – Г), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение).

Рисунок 14 – Влияние агониста Sigma1R PRE-084 на эффекты ALLO в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное экспериментальное исследование свидетельствует о вкладе шаперона Sigma1R в регуляцию фармакологических эффектов, опосредованных лигандами аллостерических (бензодиазепиновый, барбитуровый и нейростероидный), ортостерического и канального сайтов ГАМК_A рецепторов.

На первом этапе были валидированы и оптимизированы модели острых судорог, индуцированных внутривенным введением пентилентетразола, пикротоксина и бикикуллина. Установлено, что введение растворов 1% PTZ, 0,02% ВИС, 0,4% РИС со скоростью 6 мкл/с является оптимальным для оценки противосудорожной активности соединений на основе влияния на пороги судорожных реакций. Модель пентилентетразоловых судорог была валидирована при использовании референсного вещества – диазепама: подтверждено его противосудорожное действие, при этом максимальный эффект достигнут в дозе 1 мг/кг. Доза 1 мг/кг была выбрана для последующих исследований.

На острой модели судорог, вызванных внутривенным введением PTZ, обнаружено выраженное модулирующее влияние лигандов Sigma1R на противосудорожный эффект диазепама. Селективный антагонист Sigma1R BD-1047 дозозависимо ослаблял действие диазепама, снижая судорожный порог по всем регистрируемым типам судорожной активности (клонические подергивания, генерализованные клонические и тонические судороги). В то же время, селективный агонист Sigma1R PRE-084 статистически значимо усиливал противосудорожную активность диазепама. Эти данные указывают на то, что активация Sigma1R потенцирует, а блокада – снижает выраженность фармакологических эффектов, зависящих от бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецептора.

Также на моделях судорог, вызванных внутривенным введением PTZ, ВИС и РИС обнаружено собственное противосудорожное действие агониста Sigma1R фабомотизола. Противосудорожный эффект фабомотизола снижался при предварительном введении антагониста Sigma1R BD-1047, что доказывает опосредованность данного эффекта шапероном Sigma1R. Кроме того, фабомотизол, подобно агонисту Sigma1R PRE-084, значимо усиливал противосудорожное действие диазепама. Это не только подтверждает общий механизм действия агонистов Sigma1R, но и открывает перспективы для применения фабомотизола в качестве средства адьювантной терапии для потенцирования противосудорожных эффектов бензодиазепинов и, возможно, противосудорожных препаратов с иными механизмами действия. Проведенные исследования позволили впервые установить, что агонист Sigma1R PRE-084 и антагонист Sigma1R BD-1047 не оказывают влияния на пороги судорог, индуцированных как пикротоксином, так и бикикулином, несмотря на различные механизмы действия. Вместе с тем, фабомотизол демонстрирует выраженный противосудорожный эффект на обеих моделях. Устранение данного эффекта предварительным введением антагониста Sigma1R BD-1047 подтверждает роль Sigma1R-опосредованных механизмов в его реализации.

В исследовании выявлено модулирующее влияние лигандов Sigma1R на эффекты, зависящие от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора. В модели сна, вызванного пентобарбиталом, антагонист BD-1047 сокращал продолжительность сна и увеличивал время засыпания, таким образом ослабляя снотворный эффект барбитурата. Агонисты Sigma1R – PRE-084 и фабомотизол значимо усиливали действие пентобарбитала, сокращая латентный период наступления сна и увеличивая его продолжительность. Полученные данные свидетельствуют, что лигандная активация Sigma1R опосредует фармакологические эффекты, зависящие от барбитурового сайта ГАМК_A рецептора.

При анализе влияния лигандов Sigma1R на поведенческие эффекты нейростероидов аллопрегнанолона (ALLO) и изоаллопрегнанолона (ISO) – аллостерических модуляторов нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора, подтверждено, что оба эндогенных нейростероида проявляют выраженное антидепрессивное и анксиолитическое действие в тестах подвешивания за хвост и приподнятый крестообразный лабиринт соответственно. Установлено, что антагонист Sigma1R BD-1047 снижал эффекты как ALLO, так и ISO, тогда как агонист Sigma1R PRE-084 потенцировал антидепрессивное и анксиолитическое действие нейростероидов. Полученные результаты указывает на то, что лиганды Sigma1R вовлечены в модуляцию поведенческих эффектов нейростероидов, что имеет значение для понимания механизмов действия антидепрессантов на основе нейростероидов.

Сопоставление полученных результатов с литературными данными позволяет предполагать вовлечение нескольких механизмов, обуславливающих регуляцию лигандами Sigma1R активности ГАМК_A рецептора. Поскольку прямого белок-белкового взаимодействия между Sigma1R и субъединицами ГАМК_A рецептора на данный момент не установлено, регуляция может быть опосредована через механизмы взаимодействия с шаперонами ЭПР. Активация Sigma1R приводит к его диссоциации от комплекса с шапероном ЭПР BiP (GRP78), что усиливает шаперонную активность обоих белков. Это может способствовать фолдингу (оптимальной функциональной пространственной конформации белков), сборке и транспорту субъединиц ГАМК_A рецептора к клеточной мембране, повышая тем самым представленность рецептора на мембране и его доступность для лигандов. Кроме того, Sigma1R является модулятором внутриклеточных кальциевых сигналов. Агонисты Sigma1R повышают уровень внутриклеточного Ca²⁺, что может активировать Ca²⁺-зависимые протеинкиназы (например, PKC), которые, в свою очередь, фосфорилируют субъединицы ГАМК_A рецептора, регулируя их чувствительность к аллостерическим модуляторам. Также Sigma1R играет ключевую роль в обмене холестерина и организации липидных рафтов – микродоменов мембраны, в которых локализуются многие рецепторы, включая ГАМК_A. Изменение липидного окружения может напрямую влиять на конформацию и функциональные свойства рецептора.

Таким образом, настоящее исследование представляет экспериментальное подтверждение участия шаперона Sigma1R в регуляции фармакологических эффектов, опосредованных бензодиазепиновым, барбитуровым и нейростероидным сайтами связывания ГАМК_A рецепторов: агонисты Sigma1R потенцируют, а антагонисты ослабляют действие положительных аллостерических модуляторов, реализуемое через указанные сайты. Кроме того, впервые установлено, что противосудорожный эффект фабомотизола опосредован агонистической активностью в отношении Sigma1R на моделях судорог, индуцированных антагонистами ГАМК_A с разными механизмами действия.

Полученные результаты позволяют расширить показания к применению фабомотизола, способствуют развитию подходов к фармакологической коррекции ряда патологических состояний, патогенез которых сопряжен с нарушениями шаперонных функций, таких как эпилепсия, тревожно-депрессивные расстройства, нейродегенеративные заболевания. Патогенетически обоснованное сочетанное применение агонистов Sigma1R с существующими лекарственными средствами, являющимися положительными аллостерическими модуляторами ГАМК_A, может повысить эффективность и безопасность фармакотерапии.

ВЫВОДЫ

1. Впервые экспериментально доказано, что агонист Sigma1R фабомотизол в диапазоне доз 10-20 мг/кг обладает собственным противосудорожным действием в модели судорог, вызванных внутривенным введением пентилентетразола. Установлена зависимость противосудорожного эффекта фабомотизола при генерализованных тонических судорогах от шаперона Sigma1R.
2. Установлено усиление противосудорожной активности положительного аллостерического модулятора бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецептора диазепама при действии агонистов Sigma1R – PRE-084 и фабомотизола. Установлено снижение противосудорожного эффекта диазепама при действии антагониста шаперона Sigma1R BD-1047.
3. Агонист Sigma1R фабомотизол в дозе 20 мг/кг снижает скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга.
4. Впервые доказано, что агонист Sigma1R фабомотизол в дозе 20 мг/кг обладает собственным противосудорожным действием, зависимым от шаперона Sigma1R, в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A рецептора бикукуллина.
5. Впервые доказано, что агонист Sigma1R фабомотизол в дозе 20 мг/кг обладает собственным противосудорожным действием, зависимым от шаперона Sigma1R, в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A рецептора пикротоксина.
6. Впервые установлено усиление снотворного действия пентобарбитала при действии агонистов Sigma1R – PRE-084 и фабомотизола. Установлено снижение эффектов агониста барбитурового сайта пентобарбитала при действии антагониста шаперона Sigma1R BD-1047.
7. Установлено, что анксиолитический и антидепрессивный эффект аллостерических модуляторов нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона зависит от активности шаперона Sigma1R.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Установленное модулирующее влияние агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от ГАМК_A рецепторного комплекса, позволяют расширить понимание фармакологических свойств и механизмов действия как модельных лигандов Sigma1R, так и оригинальных препаратов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации

1. Voronin, M. V. Pharmacological Analysis of GABA_A Receptor and Sigma1R Chaperone Interaction: Research Report I-Investigation of the Anxiolytic, Anticonvulsant and Hypnotic Effects of Allosteric GABA_A Receptors' Ligands / M. V. Voronin, **S. V. Shangin**, S. A. Litvinova, E. V. Abramova, R. D. Kurbanov, I. V. Rybina, Y. V. Vakhitova, S. B. Seredenin // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 11. – P. 9580.
2. **Шангин, С. В.** Противосудорожные свойства фабомотизола при отдельном и совместном с диазепамом введении / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. А. Литвинова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 7. – С. 3-8.
3. **Шангин, С. В.** Оптимизация условий экспериментальных моделей, опосредованных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии / **С. В. Шангин**, В. Е. Мариевский, Ю. В. Вахитова // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 4. – С. 3-12.

4. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R на судороги, вызванные блокадой ортостерического участка и хлорного канала ГАМК_A рецептора / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, М.В. Воронин, С. Б. Середенин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 4. – С. 112-117.

5. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R на эффекты аллостерических модуляторов нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора / М. В. Воронин, **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, Е. В. Абрамова, С. Б. Середенин // Химико-фармацевтический журнал. – 2026. – Т. 60. – №. 1. – С. 1-7.

Тезисы докладов в материалах научных съездов и конференций

1. **Шангин, С. В.** Изучение влияния лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на фармакологические эффекты, опосредуемые бензодиазепиновыми и барбитуровыми сайтами связывания ГАМК_A – рецепторов / **С. В. Шангин**, С. А. Литвинова, Ю.В. Вахитова [и др.] // Сборник тезисов докладов Академического форума молодых ученых стран Большой Евразии «Континент науки». – Москва: Центр научно-технических решений. – 2023. – С. 522-523.

2. **Шангин, С. В.** Изучение влияния лиганда Sigma1R фабомотизола на фармакологические эффекты, опосредуемые ГАМК_A-рецепторами / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. Б. Середенин // Нейронаука для медицины и психологии: Материалы XX Международного междисциплинарного конгресса. – Москва: ООО «МАКС Пресс». – 2024. – С. 313-314.

3. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на фармакологические эффекты, опосредуемые ГАМК_A - рецепторами / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. А. Литвинова [и др.] // Биология - наука XXI века: Сборник тезисов 27-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием. – Пущино: ФГБНУ «ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН». – 2024. – С. 348.

4. **Шангин, С. В.** Изучение влияния лигандов Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредуемые ГАМК_A-рецепторами / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86. – №. 11s. – С. 158a.

5. **Шангин, С. В.** Влияние лиганда Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабомотизола при судорогах, вызванных внутривенной инфузией пентилентетразола / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. Б. Середенин // Сборник тезисов докладов девятой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии». – 2024. – С. 130.

6. **Шангин, С. В.** Оценка антидепрессивного и анксиолитического действия аллопрегнелона на моделях подвешивания за хвост и приподнятый крестообразный лабиринт у мышей / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова // Сборник тезисов докладов III Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы», Изд-во СибГМУ. – 2024. – С. 273-276.

7. **Шангин, С. В.** Влияние лиганда Sigma1R фабомотизола на порог возникновения судорог, вызванных биккуллином и пикротоксином / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова // Сборник тезисов 28-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология - наука XXI века». – Пущино: ФГБНУ «ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН» – 2025. – С. 649-650.

8. **Shangin, S.** Study of Sigma1R ligands on pharmacological effects mediated by neurosteroids site of GABA_A-receptors / **S. Shangin**, Y. Vakhitova, S. Litvinova, S. Seredenin // Neuroscience Applied. – 2024. – Vol. 3. – P. 105311.

9. **Shangin, S. V.** Study of Sigma1R ligands on pharmacological effects mediated by GABA_A-receptors / **S. Shangin**, S. Litvinova, Y. Vakhitova, S. Seredenin // Neuroscience Applied. – 2023. – Vol. 2. – P. 103857.

Список сокращений и условных обозначений: ГАМК – γ-аминомасляная кислота, ЭПР – эндоплазматический ретикулум, PTZ – пентилентетразол, BIC – биккуллин, PIC – пикротоксин, ALLO – аллопрегнанонон, ISO – изоаллопрегнанонон, КП – клонические подергивания, ГКС – генерализованные клонические судороги, ГТС – генерализованные тонические судороги, ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт, ОР – открытые рукава.