

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОРИГИНАЛЬНЫХ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ
БИОМЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ»

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

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН
Вахитова Юлия Венеровна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 ГАМК _A рецепторы	13
1.2 Шаперон Sigma1R	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	57
2.1 Реактивы.....	57
2.2 Экспериментальные животные.....	59
2.3 Методы исследования.....	60
2.4 Экспериментальные группы	64
2.5 Статистическая обработка.....	75
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	77
3.1 Оптимизация условий экспериментальных моделей, индуцированных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии.....	77
3.2. Влияние лигандов Sigma1R на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом и оценка их собственного противосудорожного и просудорожного действия	86
3.3 Влияние агониста Sigma1R фабомотизола на скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга	100
3.4. Изучение влияния агонистов Sigma1R PRE-084 и фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК _A пикротоксина	102
3.5 Изучение влияния агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели	

экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК _A бичукуллина.....	110
3.6 Исследование влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредованные активацией барбитурового сайта ГАМК _A рецептора.....	117
3.7 Исследование влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от нейростероидного сайта связывания ГАМК _A рецептора.....	123
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	142
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	146
ВЫВОДЫ	147
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	149
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	154

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

ГАМК_A рецепторы – основные рецепторы центральной нервной системы, опосредующие быструю тормозную нейротрансдукцию 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 [104]. 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 [305].

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⁺ – сигнализации, фолдинга белков, ответ на стресс эндоплазматического ретикулаума (ЭПР) [129, 240, 325]. 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, ацетилхолиновые рецепторы – nACh, mACh, ASIC1, TrkB, CB1R, D1R, D2R), транспортеры (DAT), ферменты, компоненты путей передачи внутриклеточных сигналов, белки-адаптеры, белки-скаффолды [325]. Накапливаются сведения о зависимости основного фармакологического действия многих нейротропных лекарственных препаратов (антидепрессанты, нейролептики, анальгетики, противосудорожные препараты) от взаимодействия с Sigma1R, что актуализирует значимость шаперона как регулятора активности фармакологически значимых мишеней [88, 362].

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

Степень разработанности проблемы

В многочисленных исследованиях, посвященных изучению ГАМК_A рецепторной нейротрансмиссии, 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 [310]. Клинически значимыми представляются данные о снижении связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A рецепторов при стрессовых воздействиях, механизмы формирования которого на данный момент не раскрыты [2, 48, 189, 376]. В фармакогенетических исследованиях было установлено, что препарат фабомотизол, не являющийся лигандом ГАМК_A рецепторов, предотвращал

падение бензодиазепинового связывания в мозге инбредных и беспородных животных [3, 6, 48]. В поведенческих тестах, моделирующих эмоционально-стрессовое воздействие, установлено, что анксиолитические свойства фабомотизола зависят от Sigma1R [363], что согласуется с выявленным ранее предотвращением стресс-индуцированного снижения бензодиазепинового связывания ГАМК_A рецептора при действии фабомотизола [6].

На данный момент имеются лишь единичные работы, посвященные исследованию возможной функциональной взаимосвязи ГАМК_A рецепторов и шаперона Sigma1R [266, 356]. В частности, показано, что Sigma1R модулирует высвобождение ГАМК, транспорт ГАМК на пресинаптическом уровне и активность ГАМК_A рецепторов [231, 262]. 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 [266].

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 диазепам 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 аллопрегнанолон и изоаллопрегнанолон 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 (бикукуллин) 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), бикикуллином (BIC) и пикротоксином (PIC), а также при киндлинге, индуцированного введением субконвульсивных доз PTZ. Влияние указанных лигандов Sigma1R оценивалось в модели пентобарбиталового сна, что позволило установить эффекты шаперона, зависящие от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецепторов. Действие BD-1047 и PRE-084 исследовано также в тестах

подвешивания за хвост и приподнятый крестообразный лабиринт на фоне действия аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона, что позволило определить эффекты, зависимые 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 бикукуллина.

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 аллопрегнанолона и

изоаллопрегнанола 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 релевантных 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-м Конгрессе Европейского колледжа нейропсихофармакологии» (36th ECNP Congress, Барселона, Испания, 2023) и «37-м Конгрессе Европейского колледжа нейропсихофармакологии» (37th ECNP Congress, Милан, Италия, 2024), 2-й Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина (Рязань, 2023), 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 и протоколов исследования, проведении всех экспериментов, анализе и обработке полученных результатов, анализе литературы по теме диссертационной работы, участии в написании и подготовке тезисов и статей. Автор принимал непосредственное участие во всех этапах исследования, осуществлял статистическую обработку, визуализацию и обобщение экспериментальных данных для публикаций и рукописи диссертации.

Публикации по теме работы

По материалам диссертационной работы опубликовано 15 научных работ: 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, 10 тезисов докладов в материалах научных съездов и конференций.

Объем 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.

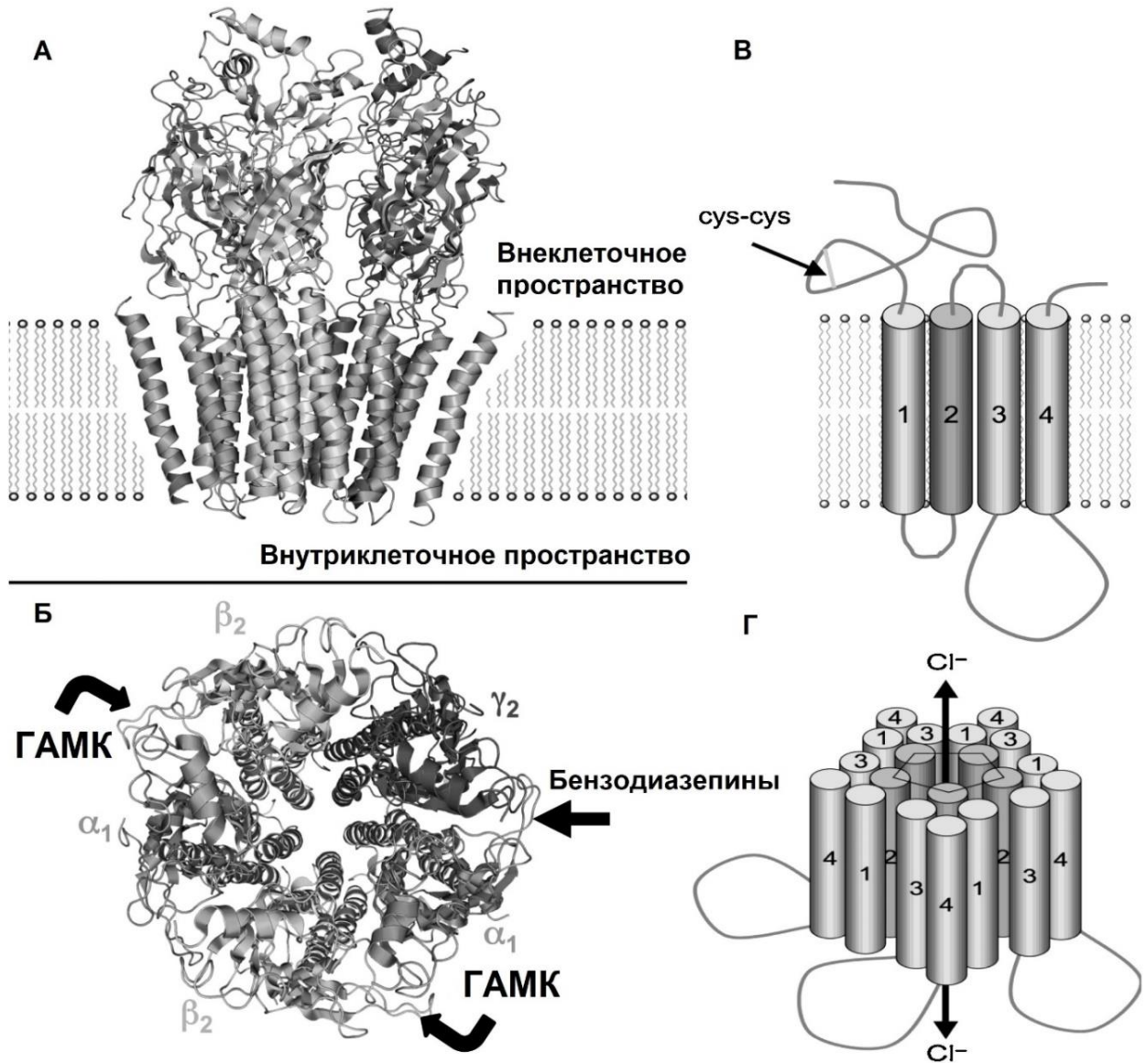
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 ГАМК_A рецепторы

ГАМК_A рецептор является лиганд-зависимым ионным каналом, опосредующим быстрое тормозное действие в ЦНС. Основным медиатором ГАМК_A является γ -аминомасляная кислота (ГАМК). При связывании ГАМК канал открывается, позволяя ионам хлора (Cl^-) поступать в нейрон, что приводит к его гиперполяризации и снижению возбудимости. Структурно рецептор представляет собой пентамерный комплекс, состоящий из пяти субъединиц, окружающих центральный ионный канал [252].

1.1.1 Структура ГАМК_A рецептора

ГАМК_A рецепторы принадлежат к суперсемейству лиганд-зависимых ионных каналов, также известному как суперсемейство цистеиновой петли (Cys-loop), в которое, помимо ГАМК_A рецепторов, входят никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR), серотониновые рецепторы типа 3 (5-HT₃), глициновые рецепторы (GlyR) и цинк-активируемые ионные каналы (ZAC) (Рисунок 1) [171, 290].



Примечание – Структурная модель пентамерного рецептора с пространственной структурой сбоку (А) и сверху (Б). Обозначены два сайта связывания ГАМК (между субъединицами α_1 , β_2) и сайт связывания бензодиазепинов. В. Схематическое изображение топологии субъединиц с внеклеточной цистеиновой петлей и 4 трансмембранных домена, второй из которых образует канал Cl⁻. Связывание ГАМК позволяет каналу открываться и проводить ионы, что приводит к быстрому ингибирующему постсинаптическому потенциалу. Г. Предполагаемое расположение 5 субъединиц (пентамеров) с центральным хлорным каналом [112].

Рисунок 1 – Модель ГАМК_A рецептора, локализованного в плазматической мембране

Общей чертой данного семейства является наличие характерной дисульфидной петли (Cys-loop) во внеклеточном N-концевом домене каждой субъединицы, образованной двумя остатками цистеина, разделенными 13 аминокислотами. Эта петля играет ключевую роль в сопряжении

конформационных изменений канала при связывании лиганда, обеспечивая передачу аллостерического сигнала от сайта связывания агониста к области ворот ионного канала [338].

Каждая субъединица ГАМК_A рецептора имеет характерную топологию, включающую четыре основных структурных домена: крупный внеклеточный N-концевой домен (ECD), трансмембранный домен (TMD), состоящий из четырех α -спиральных трансмембранных сегментов (TM1–TM4), внутриклеточный домен (ICD), расположенный в петле между TM3 и TM4, и короткий внеклеточный C-концевой участок. Внеклеточный N-концевой домен имеет структуру β -сэндвича, состоящего из двух β -листов, образующих иммуноглобулин-подобную складку. Именно в этом домене расположены ортостерические сайты связывания ГАМК и аллостерические сайты связывания бензодиазепинов [221]. Трансмембранные сегменты TM1–TM4 образуют пучок из четырех α -спиралей, при этом сегмент TM2 обращен к центральной поре канала и формирует его стенку. Пять TM2-сегментов от каждой субъединицы совместно образуют ион-проводящую пору, диаметр и заряд которой определяют ионную селективность канала. Положительно заряженные аминокислотные остатки в области TM2 обеспечивают селективную проводимость для анионов (Cl^- и, в меньшей степени, HCO_3^-) [211].

Внутриклеточный домен (ICD), образованный петлей между TM3 и TM4, является наименее консервативным участком среди субъединиц и выполняет множество регуляторных функций. В этом домене расположены сайты фосфорилирования для протеинкиназ A (PKA), C (PKC), кальций/кальмодулин-зависимой киназы II (CaMKII) и тирозинкиназ, которые модулируют кинетику канала, его поверхностную экспрессию и взаимодействие со белками-скаффолдами [197]. Кроме того, ICD обеспечивает взаимодействие с внутриклеточными белками, в первую очередь с гефирином (Gephyrin), который является ключевым белком-скаффолдом тормозных синапсов. Гефирин формирует связи, которые

локализуют синаптические ГАМК_A рецепторы напротив пресинаптических терминалей и регулирует их кластеризацию [346]. Взаимодействие с гефирином опосредуется преимущественно через γ_2 - и α -субъединицы и является важным для поддержания нормальной плотности рецепторов в синапсе.

У млекопитающих идентифицировано 19 генов, кодирующих субъединицы ГАМК_A рецептора, которые классифицируются в 8 подтипов: α (α_1 – α_6), β (β_1 – β_3), γ (γ_1 – γ_3), δ , ϵ , π , θ и ρ (ρ_1 – ρ_3). Субъединицы ρ ранее рассматривались как компоненты отдельного класса – ГАМК_C рецепторов, однако в настоящее время их классифицируют как подтип ГАМК_A рецепторов [26, 253]. Несмотря на то, что теоретическое число возможных пентамерных комбинаций из 19 субъединиц чрезвычайно велико, в нервной системе экспрессируется ограниченное число вариантов ионных каналов, что обусловлено строгими правилами сборки рецептора [382].

Большинство нативных ГАМК_A рецепторов в ЦНС состоит из двух α -, двух β - и одной γ - или δ -субъединицы в стехиометрии $2\alpha:2\beta:1\gamma/\delta$ [342]. Расположение субъединиц в пентамерном кольце, со стороны внеклеточного пространства соответствует порядку γ - β - α - β - α (или δ - β - α - β - α для δ -содержащих рецепторов). Такое расположение имеет функциональное значение, поскольку определяет формирование специфических сайтов на стыках субъединиц. Два ортостерических сайта связывания ГАМК расположены на стыках $\beta(+)/\alpha(-)$ субъединиц, тогда как аллостерический бензодиазепиновый сайт формируется на стыке $\alpha(+)/\gamma(-)$ субъединиц [307].

Подтип ГАМК_A рецептора, представленный комбинацией субъединиц $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, является наиболее распространенным в ЦНС и составляет примерно 60% от общей популяции рецепторов [141, 162, 300]. Данный подтип широко экспрессируется практически во всех областях головного мозга, включая кору, гиппокамп, мозжечок, таламус и ствол мозга, и преимущественно локализован синаптически, где опосредует быстрое фазное торможение. Рецепторы $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ характеризуются быстрой кинетикой активации и

десенситизации, высокой чувствительностью к бензодиазепинам (диазепаму, золпидему) и являются основными медиаторами седативного и снотворного действия бензодиазепиновых препаратов [283].

Реже встречаются комбинации $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ (~15–20%) и $\alpha 3\beta n\gamma 2$ (~10–15%), где βn обозначает различные варианты β -субъединиц. Рецепторы, содержащие $\alpha 2$ -субъединицу, на высоком уровне экспрессируются в гиппокампе, миндалине и стриатуме. Они преимущественно локализируются на аксональных начальных сегментах (AIS) – области нейрона, в которой генерируются потенциалы действия, где они обеспечивают мощное и точное ингибирование генерации спайков [243]. Этот подтип рецепторов играет ключевую роль в реализации анксиолитического эффекта бензодиазепинов и является перспективной мишенью для разработки новых селективных анксиолитических средств, лишенных седативного побочного действия [195].

Рецепторы, содержащие $\alpha 3$ -субъединицу, экспрессируются преимущественно в коре головного мозга, ретикулярном ядре таламуса, базальных ганглиях и стволе мозга. Они играют важную роль в регуляции двигательных функций и модуляции болевой чувствительности [284]. Совместно с $\alpha 2$ -содержащими рецепторами, $\alpha 3$ -рецепторы вовлечены в формирование миорелаксирующего эффекта бензодиазепинов [66].

Рецепторы, содержащие субъединицы $\alpha 4$, $\alpha 5$ и $\alpha 6$, а также $\beta 1$, $\gamma 1-3$, δ , ϵ , π [134] и θ [35], составляют незначительную часть общей популяции рецепторов, однако выполняют важные специализированные функции [68, 104, 171]. Рецепторы, содержащие $\alpha 4$ -субъединицу, экспрессируются преимущественно в таламусе и зубчатой извилине гиппокампа и формируют extrasинаптические рецепторы в комбинации с δ -субъединицей ($\alpha 4\beta\delta$), обеспечивающими тоническое торможение в этих структурах. Важно, что экспрессия $\alpha 4$ -содержащих рецепторов подвержена значительной динамической регуляции: она повышается при синдроме отмены этанола и эпилептическом статусе, что может иметь клиническое значение [313].

Рецепторы, содержащие $\alpha 5$ -субъединицу, локализованы преимущественно в гиппокампе, где они составляют значительную долю extrasинаптических ГАМК_A рецепторов и обеспечивают тоническое торможение. Эти рецепторы вовлечены в процессы обучения и памяти, и их селективное ингибирование рассматривается как стратегия улучшения когнитивных функций при таких заболеваниях, как синдром Дауна и возрастные когнитивные нарушения [65, 285]. Рецепторы с $\alpha 6$ -субъединицей экспрессируются почти исключительно в гранулярном слое мозжечка и улитке внутреннего уха, где они также формируют extrasинаптические комплексы с δ -субъединицей ($\alpha 6\beta\delta$) и участвуют в тонической регуляции возбудимости гранулярных клеток мозжечка [244].

Субъединицы ϵ и π имеют крайне ограниченную тканевую экспрессию. Субъединица ϵ экспрессируется в гипоталамусе, миндалине и голубом пятне, а рецепторы, содержащие ϵ -субъединицу, демонстрируют способность к спонтанному открытию канала в отсутствие ГАМК и нечувствительность к ряду анестетиков [68]. Субъединица π экспрессируется в репродуктивных органах и может модулировать чувствительность рецепторов к нейростероидам, что предполагает ее участие в гормональной регуляции ГАМКергической передачи [134]. Субъединица θ экспрессируется в ограниченных областях мозга и, по-видимому, может замещать β -субъединицу в некоторых комбинациях, хотя ее физиологическое значение остается недостаточно изученным [35].

Сборка пентамерного рецептора происходит в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) и является многоступенчатым процессом. На начальном этапе субъединицы формируют димеры (преимущественно $\alpha\beta$ - и $\alpha\gamma$ -димеры), которые затем объединяются в тримеры и, далее, в пентамеры. Неправильно собранные комплексы или свободные субъединицы задерживаются в ЭПР и подвергаются убиквитин-протеасомной деградации посредством системы ERAD (endoplasmic reticulum-associated degradation) [374]. После правильной сборки рецепторы транспортируются через аппарат Гольджи к

плазматической мембране, где встраиваются либо в синаптические, либо в extrasинаптические сайты в зависимости от субъединичного состава и взаимодействия с адапторными белками. Синаптическая локализация рецепторов опосредуется преимущественно белком гефрином и ассоциированными с ним сигнальными молекулами (коллибистин, нейролигин-2), тогда как extrasинаптическая локализация δ -содержащих рецепторов определяется иными, менее изученными молекулярными механизмами [197].

Динамическая регуляция поверхностной экспрессии ГАМК_A рецепторов происходит посредством процессов интернализации (эндоцитоза) и рециклирования. Клатрин-зависимый эндоцитоз рецепторов регулируется фосфорилированием β - и γ -субъединиц: фосфорилирование серина/треонина в ICD увеличивает стабильность рецептора на поверхности, тогда как дефосфорилирование усиливает связывание с адапторным белком AP2 и инициирует эндоцитоз. Интернализированные рецепторы могут быть рециклированы обратно на мембрану через раннюю эндосомальную систему или направлены на лизосомальную деградацию. Этот процесс является важным механизмом синаптической пластичности тормозных синапсов и может нарушаться при ряде патологических состояний [172].

1.1.2 Функции ГАМК_A рецепторов

Как было отмечено выше, комбинации субъединиц определяют функциональные и фармакологические свойства рецептора: кинетику активации и десенситизации, проводимость одиночного канала, синаптическую или extrasинаптическую локализацию в нейроне и чувствительность к широкому спектру лекарственных средств [253].

Основная функция ГАМК_A рецептора заключается в селективном проведении анионов – ионов хлора (Cl^-) и, в меньшей степени, бикарбонат-ионов (HCO_3^-) [290]. Проницаемость канала для HCO_3^- составляет

приблизительно 20-25% от проницаемости для Cl^- , что при определенных условиях может приводить к деполяризующему компоненту ГАМКергического ответа, особенно при интенсивной и продолжительной активации рецепторов, когда происходит внутриклеточное накопление Cl^- [155].

При связывании двух молекул ГАМК с ортостерическими сайтами, расположенными на стыке $\beta(+)/\alpha(-)$ субъединиц, происходит конформационное изменение белка – переход из закрытого состояния через промежуточные конформации в полностью открытое состояние ионного канала. Данный процесс описывается моделью циклического аллостерического перехода, согласно которой каждая субъединица может существовать в нескольких конформационных состояниях, а связывание агониста стабилизирует открытую конформацию [304].

Направление и величина тока Cl^- через ГАМК_A рецептор зависят от электрохимического градиента для этого иона, который определяется соотношением работы двух ключевых катион-хлорных котранспортеров: KCC2 (K^+ - Cl^- котранспортер 2, ген *SLC12A5*), выводящего Cl^- из клетки, и NKCC1 (Na^+ - K^+ -2 Cl^- котранспортер 1, ген *SLC12A2*), закачивающего Cl^- внутрь клетки. В зрелых нейронах ЦНС преобладает экспрессия KCC2, который поддерживает внутриклеточную концентрацию Cl^- на уровне приблизительно 5–8 мМ, что значительно ниже внеклеточной концентрации (около 120 мМ). Открытие ГАМК_A рецептора приводит к входящему току Cl^- , гиперполяризации мембраны и торможению генерации потенциалов действия [33].

В раннем постнатальном периоде и при некоторых патологических состояниях (эпилепсия, травматическое повреждение мозга, нейровоспаление) доминирует экспрессия NKCC1, что приводит к высокому внутриклеточному уровню Cl^- (20–40 мМ). В этих условиях открытие ГАМК_A рецептора вызывает выход Cl^- из клетки, деполяризацию и возбуждение нейрона. Деполяризующее действие ГАМК в раннем периоде

развития играет трофическую роль, участвуя в регуляции пролиферации нейрональных предшественников, миграции нейронов, роста дендритов и формирования синапсов. Однако в зрелом мозге патологический сдвиг гомеостаза ионов хлора способствует развитию судорог и фармакорезистентной эпилепсии, а также усугубляет нейропатическую боль [33, 51, 61, 155]. Именно нарушение гомеостаза ионов хлора объясняет, почему ГАМКергические препараты (бензодиазепины, барбитураты) могут быть неэффективными или даже проконвульсивными при некоторых формах неонатальных судорог и при фармакорезистентном эпилептическом статусе [30, 44, 90, 96].

ГАМКергическое торможение играет важную роль в контроле синаптической пластичности, регулируя индукцию долговременной потенциации и долговременной депрессии в возбуждающих синапсах. Так, тормозные входы ограничивают деполяризацию дендритов, необходимую для снятия магниевого блока с NMDA-рецепторов, и повышают порог индукции долговременной потенциации. Ослабление ГАМКергического торможения является физиологическим механизмом, способствующим обучению, тогда как его усиление может нарушать процессы пластичности и ухудшать когнитивные функции. Дисбаланс регуляции тормозной системы может нарушать эти процессы и лежит в основе когнитивного дефицита при ряде неврологических и психиатрических заболеваний [23, 42].

Активация ГАМКергических нейронов в вентролатеральном преоптическом ядре (VLPO) гипоталамуса является ключевым механизмом инициации и поддержания медленноволнового сна. Нейроны VLPO выделяют ГАМК и галанин, которые тормозят моноаминергические центры бодрствования, такие как голубое пятно, дорсальные ядра шва и туберомамиллярное ядро. Эта взаимная тормозная связь между центрами сна и бодрствования обеспечивает стабильность и быстрое переключение между ними [294]. Субъединичный состав ГАМК_A рецепторов в различных ядрах гипоталамуса, модулирующих циркадные ритмы, также влияет на

характер осцилляций и синхронизацию нейронов супрахиазматического ядра [109].

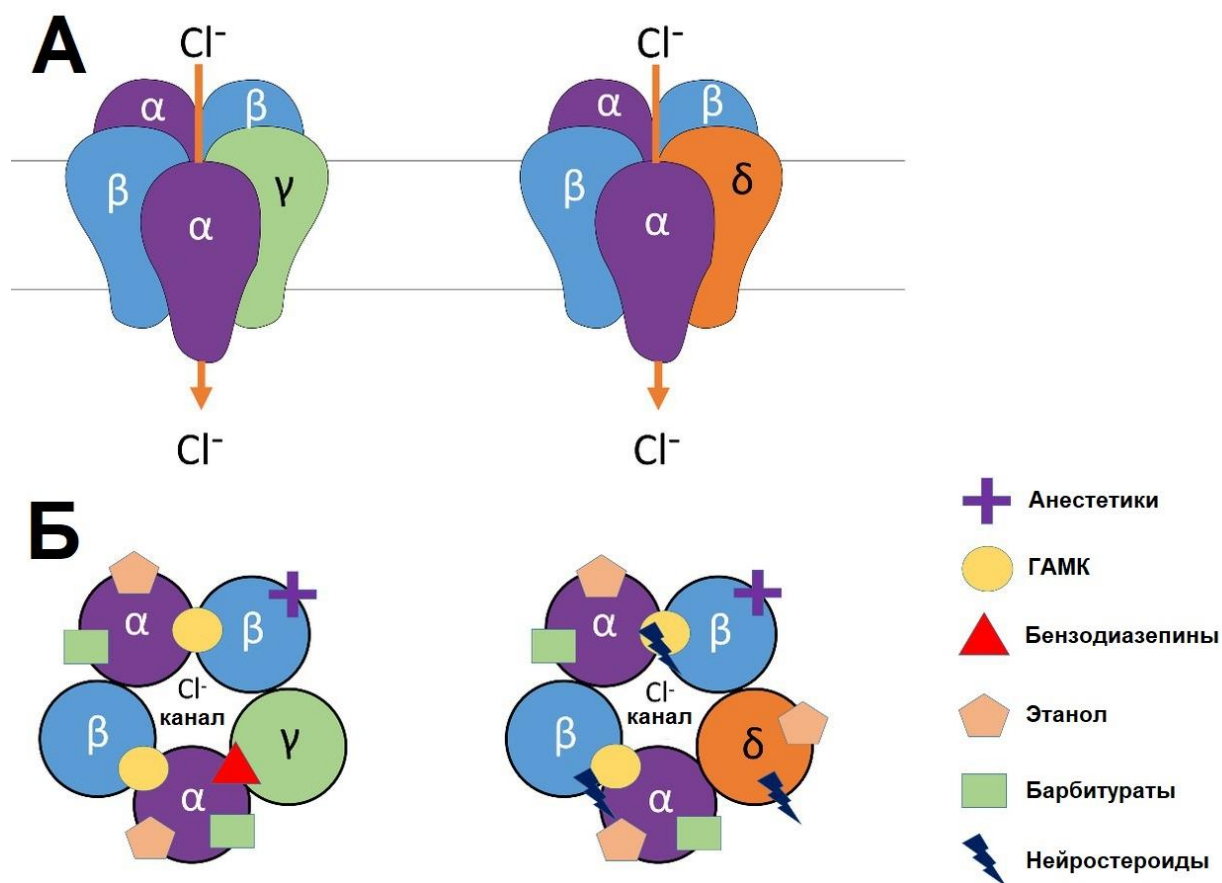
Кроме того, ГАМК_A рецепторы вовлечены в регуляцию секреции гормонов гипоталамо-гипофизарной оси. ГАМКергические входы на нейроны, секретирующие гонадотропин-рилизинг-гормон, кортикотропин-рилизинг-гормон и тиреотропин-рилизинг-гормон, модулируют репродуктивную функцию, стрессовый ответ и метаболизм. Нарушение ГАМКергической регуляции гипоталамуса может лежать в основе таких состояний, как дисфункция оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники при хроническом стрессе и депрессии [203].

Таким образом, функции ГАМК_A рецептора включают в себя как механизмы проведения ионов хлора через формирование локальных тормозных цепей, так и высшие интегративные функции, такие как обучение, эмоциональная регуляция, контроль двигательной активности и циклы сна-бодрствования. Способность ГАМК_A рецептора к регуляции через множество аллостерических сайтов, а также пластичность его субъединичного состава позволяют определить его в качестве центральной мишени для фармакотерапии широкого спектра неврологических и психиатрических расстройств [47, 72, 120, 137, 138, 292, 314, 339].

1.1.3 Положительные аллостерические модуляторы бензодиазепинового сайта связывания ГАМК_A рецептора

Бензодиазепиновые транквилизаторы, используемые в клинической практике, являются положительными аллостерическими модуляторами (ПАМ) ГАМК_A рецепторов (Рисунок 2) и усиливают рецепцию ГАМК. В 1977 году две независимые группы исследователей идентифицировали высокоаффинные сайты связывания [³H]диазепама в мозге крыс, что ознаменовало начало изучения молекулярной фармакологии ГАМК_A рецепторов [224, 318]. Впоследствии было установлено, что этот сайт

является аллостерическим, то есть структурно и функционально отличается от ортостерического сайта связывания ГАМК.



Примечание – На основе рисунка из источника [75].

Рисунок 2 – Субъединицы и сайты связывания ГАМК_A рецептора

Механизм действия бензодиазепинов принципиально отличается от прямой агонистической активации рецептора. Бензодиазепины не способны открывать ионный канал самостоятельно и для проявления их эффекта необходимо присутствие эндогенного лиганда ГАМК. Анализ флуктуаций шума тока [323] и исследования одиночных каналов [278] показали, что бензодиазепины увеличивают частоту открывания хлорного канала ГАМК_A рецепторов, не изменяя при этом продолжительность каждого отдельного открытия и не влияя на проводимость канала. При максимальных концентрациях бензодиазепинов усиление ГАМКергического тока

ограничено частотой связывания ГАМК с рецептором, что объясняет относительно широкий терапевтический индекс этих препаратов по сравнению с барбитуратами [7, 114].

На молекулярном уровне связывание бензодиазепинов с аллостерическим сайтом вызывает конформационные изменения, которые передаются через внеклеточный домен к трансмембранным спиральям, формирующим ионный канал. Исследования с использованием крио-электронной микроскопии позволили визуализировать структурные изменения, происходящие при связывании диазепама с $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ рецептором [211]. Было показано, что диазепам стабилизирует закрытую конформацию внеклеточного домена, что облегчает переход канала из закрытого в открытое состояние при связывании ГАМК. Данная работа также подтвердила, что бензодиазепиновый сайт расположен на стыке $\alpha(+)/\gamma(-)$ субъединиц, в кармане, образованном петлями А, В и С α -субъединицы и петлями D, E и F γ -субъединицы [306].

Функциональная активность бензодиазепинов связана с усилением токов ГАМК_A рецепторов и требует наличия γ -субъединицы, а селективность ответа определяется подтипами α -субъединиц [357, 372], а сайт связывания расположен между α - и γ -субъединицами во внеклеточном N-концевом домене [83, 167, 312].

Бензодиазепины эффективны при большинстве типов экспериментальных судорог, особенно в моделях, вызванных пентилентетразолом (PTZ) [277], замедляют развитие киндлинга [14], но менее эффективны при судорогах, вызванных максимальным электрошоком [330]. Данное различие объясняется тем, что модель PTZ-индуцированных судорог преимущественно отражает нарушения ГАМКергической нейротрансмиссии, тогда как модель максимального электрошока в большей степени зависит от глутаматергических механизмов и натриевых каналов [192]. В клинической практике бензодиазепины (диазепам, лоразепам, мидазолам, клоназепам) являются препаратами первой линии для

купирования эпилептического статуса и острых судорожных приступов [37, 41, 106].

1.1.4 Положительные аллостерические модуляторы барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора

Барбитураты представляют собой один из старейших классов лекарственных средств, действующих на ГАМК_A рецепторы. Барбитуровая кислота была синтезирована Адольфом фон Байером в 1864 году, а первый клинически значимый барбитурат был введен в медицинскую практику в 1903 году. Фенобарбитал, синтезированный в 1912 году, до сих пор остается одним из наиболее широко используемых противоэпилептических препаратов в мире [182].

Механизм действия барбитуратов заключается в усилении токов ГАМК_A рецепторов (Рисунок 2), а также в ингибировании возбуждения потенциалов действия, опосредуемых натриевыми каналами нейронов [200, 248], за счет уменьшения времени их открытия [273]. Данный механизм действия обуславливает способность к противосудорожному действию и профиль побочных эффектов [343].

Механизм действия барбитуратов на ГАМК_A рецепторы существенно отличается от механизма действия бензодиазепинов. При совместном действии с ГАМК в низких концентрациях барбитураты увеличивают среднее время открытия канала, при этом не влияя на частоту [201], что приводит к большему потоку ионов Cl⁻ на каждое открытие. Таким образом, бензодиазепины увеличивают частоту открытия канала, не влияя на длительность каждого открытия, а барбитураты, напротив, увеличивают длительность открытого состояния, не влияя на частоту. Эта фундаментальная разница в механизме действия была впервые продемонстрирована в классических электрофизиологических экспериментах

с использованием метода анализа флуктуаций шума [323] и записей одиночных каналов [345].

Важной особенностью барбитуратов является их способность при высоких концентрациях активировать ГАМК_A рецепторы в отсутствие ГАМК, что отличает их от бензодиазепинов. Эта прямая агонистическая активность была продемонстрирована на культурах нейронов гиппокампа крысы, где как фенобарбитал, так и пентобарбитал вызывали токи, которые блокировались пикротоксином, но не бикикуллином при высоких концентрациях [274]. Также было обнаружено, что при еще более высоких концентрациях барбитураты блокируют открытый канал ГАМК_A рецептора, что может приводить к парадоксальному снижению ГАМКергического тока [122, 274]. Именно способность барбитуратов к прямой активации рецептора и блокаде канала при высоких дозах объясняет их узкий терапевтический индекс и высокий риск летального исхода при передозировке, что отличает их от бензодиазепинов, которые не обладают способностью к прямой активации канала [194].

Локализация сайтов связывания барбитуратов на ГАМК_A рецепторе отличается от бензодиазепинового сайта. Исследования с использованием фотоаффинного мечения и мутагенеза показали, что барбитураты связываются в трансмембранном домене рецептора, в области, образованной вторым (TM2) и третьим (TM3) трансмембранными сегментами β -субъединицы, а также первым трансмембранным сегментом (TM1) α -субъединицы [170]. Структурные данные подтвердили наличие сайтов связывания барбитуратов в трансмембранном домене на границе между β и α субъединицами [148].

В отличие от бензодиазепинов и нейростероидов, чувствительность к барбитуратам не зависит от субъединичного состава рецептора. Показано, что гомомерные $\beta 1$ рецепторы активировались пентобарбиталом и блокировались пикротоксином, но не бикикуллином [179]. Пентобарбитал также индуцировал ток как в $\alpha 1$ - $\beta 3$, так и в $\beta 3$ гомомерных ГАМК_A

рецепторах [69]. Эти данные свидетельствуют о том, что элементы, необходимые для связывания и активации барбитуратами, присутствуют уже в минимальной конфигурации рецептора, состоящей из β -субъединиц.

В клинической практике фенобарбитал сохраняет свое значение как противоэпилептический препарат, эффективный при генерализованных тонико-клонических приступах и фокальных судорогах [39]. Тиопентал и пентобарбитал используются для индукции барбитуратовой комы при рефрактерном эпилептическом статусе, когда другие методы лечения оказываются неэффективными [56, 92]. Однако из-за узкого терапевтического индекса, высокого потенциала зависимости и доступности более безопасных альтернатив применение барбитуратов в развитых странах значительно сократилось [194].

1.1.5 Положительные аллостерические модуляторы нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора

Нейростероиды представляют собой класс эндогенных модуляторов ГАМК_A рецепторов, которые синтезируются *de novo* в головном мозге из холестерина или из циркулирующих в крови предшественников [82]. Ключевыми нейроактивными стероидами, модулирующими ГАМК_A рецепторы, являются 3α -гидрокси- 5α -прегнан-20-он (аллопрегнанонон, ALLO), $3\alpha,21$ -дигидрокси- 5α -прегнан-20-он (тетрагидродеоксикортикостерон, THDOC) и 3α -гидрокси- 5β -прегнан-20-он (прегнанонон) [27].

Биосинтез нейростероидов начинается с транспорта холестерина во внутреннюю мембрану митохондрий при участии транслокаторного белка 18 кДа (TSPO). Далее холестерин превращается в прегненонон под действием цитохрома P450, который затем конвертируется в прогестерон. Прогестерон восстанавливается 5α -редуктазой до 5α -дигидропрогестерона, а затем 3α -гидроксистероиддегидрогеназой до аллопрегнанонона [8]. Уровни

нейростероидов в мозге колеблются в зависимости от физиологического состояния. Они повышаются при стрессе, во время беременности и в определенные фазы менструального цикла, а снижаются при депрессии, тревожных расстройствах и эпилепсии [298].

В отличие от бензодиазепинов, которые связываются с α и γ субъединицами, нейростероиды, как считается, связываются в трансмембранном домене рецептора на стыке α и β субъединиц (Рисунок 2). Нейростероид аллопрегнанола (ALLO) взаимодействует с интерсубъединичными и интрасубъединичными участками связывания в области трансмембранных доменов $\alpha 1$ и $\beta 3$ субъединиц ГАМК_A рецептора. Данные рентгеновской кристаллографии позволили идентифицировать два сайта связывания нейростероидов: интрасубъединичный сайт, расположенный в кармане между TM1 и TM4 α -субъединицы, и интерсубъединичный сайт, расположенный на стыке TM1 α -субъединицы и TM3 β -субъединицы [185]. Эти два сайта действуют аддитивно и независимо друг от друга, что было подтверждено в электрофизиологических экспериментах с мутантными рецепторами [103].

ALLO является ПАМ как синаптических, так и экстраинаптических ГАМК_A рецепторов [55, 228, 327, 329]. Положительный аллостерический эффект нейростероидов обусловлен стабилизацией конформации ионного канала в открытом состоянии [185]. В то время как бензодиазепины увеличивают частоту открытия канала в ответ на ГАМК, нейростероиды удлиняют продолжительность каждого отдельного открытия. Это приводит к значительному усилению общего ионного тока Cl⁻ [309].

Важной особенностью нейростероидов является их способность, подобно барбитуратам, непосредственно активировать ГАМК_A рецепторы при высоких концентрациях, даже в отсутствие ГАМК. Однако в физиологических концентрациях они действуют исключительно как ПАМ, усиливая ответ рецептора на ГАМК [43]. Прямая активация рецептора нейростероидами отличается от таковой барбитуратами. Токи, вызванные

нейростероидами, характеризуются медленной кинетикой активации и деактивации, что отражает их липофильную природу и мембранный путь доступа к сайтам связывания [12].

Нейростероиды проявляют преимущественную активность в отношении extrasинаптических δ -содержащих ГАМК_A рецепторов, которые отвечают за тоническое торможение. δ -содержащие рецепторы обладают высоким сродством к ГАМК и нейростероидам и практически не десенситизируются [321]. Это делает extrasинаптические рецепторы особенно чувствительными мишенями для нейростероидов, которые модулируют общий уровень возбудимости нейрональных сетей.

Стереохимия нейростероидов играет критическую роль в определении характера их действия на ГАМК_A рецепторы. 3α -нейростероиды являются мощными ПАМ, тогда как их 3β -эпимеры обладают значительно меньшей аффинностью к классическим нейростероидным сайтам. Конфигурация в положении C5 также влияет на активность: 5α -стероиды несколько более активны, чем 5β -, хотя оба являются эффективными ПАМ [63].

Показано, что изоаллопрегнанонон (ISO) – 3β -ОН эпимер ALLO связывается только с интрасубъединичными сайтами $\alpha 1$ и $\beta 3$ субъединиц ГАМК_A рецепторов [53, 327, 367]. В экспериментах ISO обладает свойствами антагониста ALLO [150]. Предполагается, что ISO может конкурентно ингибировать связывание 3α -восстановленных нейростероидов с интрасубъединичными сайтами, предотвращая их ПАМ-эффект [20]. Однако в клинических исследованиях ISO (Sepranolone) проявляет антидепрессивные и анксиолитические свойства при назначении для коррекции предменструального дисфорического расстройства [19, 32], что, вероятно, связано с его биотрансформацией в ALLO [136]. Альтернативная гипотеза предполагает, что при определенных патологических состояниях, таких как предменструальное дисфорическое расстройство, повышенный уровень эндогенного аллопрегнанонона может вызывать тревогу и раздражительность

вследствие измененной чувствительности ГАМК_A рецепторов. Введение ISO при этом может нормализовать этот дисбаланс [20].

Клиническое применение нейростероидов как фармакологических агентов стало одним из наиболее значимых достижений в психофармакологии. В экспериментах и клинике препараты ALLO (например, Brexanolone) проявляют антидепрессивные и анксиолитические свойства [87, 272], и в клинической практике используется в качестве препарата для лечения послеродовой депрессии и катамениальной эпилепсии [365]. Brexanolone (Zulresso®) был одобрен FDA в 2019 году как первый препарат, специально разработанный для лечения послеродовой депрессии. Препарат вводится внутривенно в течение 60 часов под контролем медицинского персонала в связи с рисками чрезмерной седации и потери сознания [218].

Значительным прогрессом стала разработка перорально биодоступных аналогов аллопрегнанолона. Зуранолон (Zurzuvae®, SAGE-217) представляет собой синтетический нейроактивный стероид, структурно родственной аллопрегнанолону, но обладающий значительно лучшей пероральной биодоступностью благодаря модификации в положении C19 молекулы [115]. В 2023 году зуранолон был одобрен FDA для лечения послеродовой депрессии с возможностью перорального приема в течение 14 дней, что существенно упростило схему лечения по сравнению с brexanolone [71].

Ганаксолон (Ganaxolone, Ztalmy®) является синтетическим 3 β -метилированным аналогом аллопрегнанолона, устойчивым к обратному окислению 3 α -HSD, что обеспечивает более стабильную фармакокинетику. В 2022 году ганаксолон был одобрен FDA для лечения судорог, ассоциированных с дефицитом CDKL5, являющейся редкой формой генетической эпилепсии [337]. Ганаксолон также исследуется в клинических испытаниях при рефрактерном эпилептическом статусе и синдроме PCDH19-эпилепсии [328].

Противосудорожная активность нейростероидов продемонстрирована в широком спектре экспериментальных моделей эпилепсии. ALLO и THDOC эффективно подавляют судороги, вызванные PTZ, пикротоксином, кокаином и 4-аминопиридином, а также судороги в моделях киндлинга и пилокарпинового эпилептического статуса [160]. Механизм противосудорожного действия нейростероидов связан как с усилением синаптического торможения через $\gamma 2$ -содержащие рецепторы, так и с повышением тонического торможения через δ -содержащие экстраинаптические рецепторы [270].

1.1.6 Антагонисты и негативные аллостерические модуляторы ГАМК_A рецепторов

Антагонисты и негативные аллостерические модуляторы (НАМ) ГАМК_A рецепторов представляют собой гетерогенную группу соединений, которые снижают или полностью блокируют функцию рецептора посредством различных механизмов. Данные соединения используются в экспериментальной нейробиологии для изучения роли ГАМКергического торможения. При этом некоторые НАМ нашли ограниченное, но важное клиническое применение [17, 280].

Конкурентные антагонисты ортостерического сайта связывания ГАМК. Бикукуллин является конкурентным антагонистом ортостерического сайта ГАМК_A рецепторов. Этот изохинолиновый алкалоид, впервые выделенный из растения *Dicentra cucullaria*, связывается с участком распознавания ГАМК на стыке α - и β -субъединиц, конкурируя с эндогенным медиатором за место связывания [67]. Бикукуллин блокирует как синаптическое, так и экстраинаптическое торможение, что приводит к резкому сдвигу баланса возбуждения и торможения в сторону гипервозбудимости нейронных сетей. В экспериментальных условиях бикукуллин вызывает дозозависимые эпилептиформные разряды в срезах

гиппокампа и неокортекса, а при системном введении – генерализованные тонико-клонические судороги у грызунов [250]. Важно отметить, что бикикуллин является селективным антагонистом ГАМК_A рецепторов и не влияет на ГАМК_B и ГАМК_C рецепторы в терапевтически значимых концентрациях, что делает его ценным фармакологическим инструментом для дифференциации типов ГАМКергического торможения в экспериментальных условиях [64].

Габазин (SR-95531) является еще одним широко используемым конкурентным антагонистом ортостерического сайта ГАМК_A рецепторов. В отличие от бикикуллина, габазин обладает рядом преимуществ: он более стабилен в водных растворах, не подвержен гидролизу и имеет более высокую селективность в отношении ГАМК_A рецепторов [133]. Габазин эффективно блокирует как спонтанные, так и вызванные тормозные постсинаптические токи в нейронах гиппокампа, коры и мозжечка. Его применение в электрофизиологических экспериментах *in vitro* позволяет отделить возбуждающую глутаматергическую передачу от тормозной ГАМКергической, что является стандартным подходом при исследовании синаптической пластичности [353].

Неконкурентные антагонисты (блокаторы ионного канала).

Пикротоксин представляет собой неконкурентный антагонист ГАМК_A рецепторов, который блокирует ионный канал путем связывания с сайтом, расположенным в просвете поры канала, в области второго трансмембранного домена (ТМ2) субъединиц рецептора [211]. Пикротоксин действует как блокатор открытого канала, стабилизируя его в закрытой конформации [238]. Важной особенностью пикротоксина является его способность блокировать ГАМК_A рецепторы независимо от субъединичного состава, включая гомомерные рецепторы, состоящие только из β -субъединиц. Это свойство отличает его от бикикуллина и указывает на принципиально иной механизм действия – аллостерическую блокаду ионной поры, а не конкуренцию за сайт связывания агониста [251].

Пентилентетразол (PTZ) является конвульсантом, который также действует как неконкурентный антагонист ГАМК_A рецепторов, связываясь с сайтом, частично перекрывающимся с сайтом действия пикротоксина [143]. PTZ является одним из наиболее широко используемых хемоконвульсантов в доклинических моделях эпилепсии и скрининге противоэпилептических препаратов. Модель судорог, индуцированных PTZ, у грызунов является стандартным тестом для оценки противосудорожной активности потенциальных лекарственных средств [192]. Чувствительность к PTZ варьирует между линиями животных и зависит от генетического фона, что связано с различиями в экспрессии субъединиц ГАМК_A рецепторов [59]. Подкожное введение PTZ вызывает у мышей клонические и тонические судороги, которые эффективно предотвращаются бензодиазепинами, барбитуратами и вальпроатом натрия, но не фенитоином и карбамазепином, что используется для дифференциации механизмов действия противоэпилептических средств [230].

Антагонисты бензодиазепинового сайта. Флумазенил является антагонистом бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецепторов, одобренным для клинического применения. Этот имидазобензодиазепин связывается с высоким сродством с бензодиазепиновым сайтом на стыке α - и γ -субъединиц, но, в отличие от классических бензодиазепинов, не вызывает аллостерического усиления функции рецептора [143]. Флумазенил вытесняет бензодиазепины из рецептора и снимает их фармакологические эффекты – седацию, амнезию, миорелаксацию и угнетение дыхания. Клиническое применение флумазенила включает экстренное купирование передозировки бензодиазепинами и отмену бензодиазепиновой седации после диагностических и хирургических процедур [303]. Однако у пациентов с длительным приемом бензодиазепинов его введение может спровоцировать синдром отмены, а у пациентов с эпилепсией вызывает судорожные приступы. Период полувыведения флумазенила значительно короче, чем у большинства бензодиазепинов, что обуславливает необходимость

повторного введения или непрерывной инфузии для предотвращения ресседации [369].

В некоторых экспериментальных условиях флумазенил демонстрирует свойства слабого агониста и незначительно усиливает ГАМК_A рецепторную передачу при введении в отсутствие экзогенных бензодиазепинов, что может быть связано с наличием эндогенных аллостерических модуляторов бензодиазепинового сайта [370].

Антагонисты нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора. К числу веществ, блокирующих нейростероидную модуляцию ГАМК_A рецепторов, относят 17РА (17-фенил-(5 α ,17 α)-андрост-16-ен-3-ол) – синтетический стероидный аналог, который конкурентно ингибирует потенцирующие эффекты аллопрегнанолона на ГАМК_A рецепторы [163]. 17РА блокирует как потенцирование, так и прямую активацию рецепторов нейростероидами, не влияя при этом на действие ГАМК, бензодиазепинов или барбитуратов, что подтверждает существование специфического нейростероидного сайта связывания, отличного от других аллостерических сайтов. Другим антагонистом нейростероидного сайта является (3 α ,5 α)-3-гидроксипрегнан-20-он сульфат (прегнанолон сульфат), который ингибирует ГАМК_A рецепторы путем связывания с негативным аллостерическим модуляторным сайтом, расположенным в трансмембранном домене [204]. Дегидроэпиандростерона сульфат (DHEAS) также действует как эндогенный отрицательный модулятор ГАМК_A рецепторов, причем его ингибирующее действие опосредуется преимущественно extrasинаптическими рецепторами, содержащими δ -субъединицу. Изменения уровня DHEAS в плазме и мозге с возрастом могут вносить вклад в возрастные изменения возбудимости нейронных сетей и когнитивных функций [320].

Роль антагонистов ГАМК_A рецепторов в экспериментальном моделировании заболеваний. Антагонисты и негативные аллостерические модуляторы ГАМК_A рецепторов играют важную роль в моделировании эпилепсии и судорожных состояний. Антагонисты ГАМК_A рецепторов, такие

как бикикуллин и пикротоксин, вызывают судороги у животных и эпилептиформную активность в срезах мозга. При моделировании эпилепсии и судорог у животных обнаруживались изменения экспрессии или функций ГАМК_A рецепторов [73, 152, 341].

Модель судорог, индуцированных PTZ, основана на подкожном, внутрибрюшинном или внутривенном введении и позволяет воспроизводить клонические и тонико-клонические судороги различной степени тяжести. Шкала Расина, модифицированная для химических конвульсантов, и другие протоколы на ее основе используются для стандартизированной оценки тяжести судорожных проявлений [267]. Хроническое введение субконвульсивных доз PTZ (модель киндлинга) воспроизводит прогрессирующее усиление судорожной активности, моделируя процесс эпилептогенеза, и сопровождается пластическими изменениями в экспрессии субъединиц ГАМК_A рецепторов в гиппокампе и коре [191].

Модель пилокарпин-индуцированного и каинат-индуцированного эпилептического статуса также сопровождается значительными изменениями субъединичного состава ГАМК_A рецепторов в хронической фазе. В этих моделях наблюдается повышение экспрессии $\alpha 4$ -субъединицы, снижение экспрессии δ -субъединицы и перераспределение $\gamma 2$ -субъединицы из синаптических в экстраинаптические сайты, что приводит к нарушению как фазного, так и тонического торможения [260]. Эти данные свидетельствуют о том, что эпилептогенез сопровождается ремоделированием ГАМКергической системы, что может существенно влиять на эффективность фармакотерапии.

Эндогенные негативные модуляторы. Помимо экзогенных антагонистов, ряд эндогенных соединений обладает свойствами негативных модуляторов ГАМК_A рецепторов. К ним относятся ионы цинка, а также некоторые нейростероиды сульфатного ряда. Прегненолона сульфат является эндогенным нейростероидом, который ингибирует ГАМК_A рецепторы и одновременно потенцирует NMDA-рецепторы, оказывая, таким образом двойное возбуждающее действие [265]. Уровень прегненолона сульфата

снижается с возрастом, и предполагается, что это может вносить вклад в возрастное когнитивное снижение через нарушение баланса возбуждения и торможения.

1.1.7 Взаимодействие ГАМК_A рецепторов с другими нейротрансмиттерными системами и внутриклеточными сигнальными каскадами

Функционирование ГАМК_A рецепторов не может рассматриваться изолированно от взаимодействий с другими рецепторными и сигнальными системами. Модуляция между ГАМК_A рецепторами и другими нейротрансмиттерными системами является ключевым механизмом тонкой нейронной возбудимости и представляет значительный интерес для фармакотерапии.

Баланс между возбуждающей глутаматергической и тормозной ГАМКергической системами является фундаментальным принципом организации нейронных сетей. Нарушение этого баланса лежит в основе патогенеза эпилепсии, нейродегенеративных заболеваний, шизофрении и тревожных расстройств [316]. ГАМК_A рецепторы и NMDA-рецепторы функционально сопряжены через несколько механизмов. Активация NMDA-рецепторов вызывает вход Ca^{2+} в нейрон, что активирует кальций-зависимые протеинкиназы и фосфатазы, которые, в свою очередь, модулируют фосфорилирование β - и γ -субъединиц ГАМК_A рецепторов. Фосфорилирование β -субъединицы увеличивает поверхностную экспрессию рецепторов и усиливает тормозные токи, тогда как дефосфорилирование снижает число рецепторов и ослабляет торможение [197]. Этот механизм обеспечивает гомеостатическую обратную связь: усиление возбуждающей передачи через NMDA-рецепторы компенсаторно усиливает тормозную функцию ГАМК_A рецепторов, предотвращая эксайтотоксичность.

Функция ГАМК_A рецепторов подвергается активной модуляции внутриклеточными протеинкиназами и фосфатазами. Протеинкиназа С фосфорилирует серин в большой внутриклеточной петле β-субъединиц ГАМК_A рецептора, что влияет на его мобильность в мембране, эндоцитоз и ассоциацию с якорными белками постсинаптической плотности [229]. Нарушение фосфорилирования ГАМК_A рецепторов связывается с патогенезом шизофрении, при которой наблюдается снижение активности в префронтальной коре [81].

Кластеризация ГАМК_A рецепторов в постсинаптической мембране обеспечивается взаимодействием с рядом якорных и каркасных белков. Гефирин является основным якорным белком тормозных синапсов, формирующим субсинаптический каркас и обеспечивающим локализацию ГАМК_A рецепторов в синаптической мембране напротив пресинаптических терминалей [346]. Гефирин взаимодействует с большой внутриклеточной петлей α1-, α2-, α3- и γ2-субъединиц ГАМК_A рецептора, и нарушение этого взаимодействия приводит к снижению синаптической кластеризации рецепторов и ослаблению фазного торможения. Белок GABARAP участвует во внутриклеточном трафике ГАМК_A рецепторов, обеспечивая их транспорт из эндоплазматического ретикула к плазматической мембране [173]. Радиксин обеспечивает связь экстрасинаптических α5-содержащих ГАМК_A рецепторов с актиновым цитоскелетом, стабилизируя их экстрасинаптическую локализацию [125].

Серотонинергическая, дофаминергическая и норадренергическая системы модулируют функцию ГАМК_A рецепторов через несколько механизмов. Активация серотониновых рецепторов 5-HT_{2A/2C} в интернейронах коры усиливает высвобождение ГАМК, косвенно увеличивая тормозную передачу. Дофамин через D₁-рецепторы и активацию РКА модулирует фосфорилирование ГАМК_A рецепторов в полосатом теле и префронтальной коре [197]. Норадреналин через β-адренорецепторы и цАМФ-зависимые механизмы также влияет на функции ГАМК_A рецепторов в

мозжечке и гиппокампе. Эти перекрестные взаимодействия имеют клиническое значение, поскольку многие психотропные препараты влияют на моноаминергические системы и, косвенно, на ГАМКергическую передачу.

Таким образом, ГАМК_A рецептор функционирует как элемент в сложной сети межмолекулярных взаимодействий, включающей белки-партнеры, внутриклеточные киназы и фосфатазы, а также другие нейротрансмиттерные системы [161, 202, 212].

1.2 Шаперон Sigma1R

1.2.1 Молекулярная структура и биохимические свойства Sigma1R

Sigma1R – резидентный белок-шаперон ЭПР, широко представленный в центральной нервной системе и на периферии. В головном мозге наибольшая концентрация рецептора обнаружена в гиппокампе, ядрах шва и коре больших полушарий; Sigma1R экспрессируется как в нейронах, так и в глиальных клетках. Sigma1R преимущественно локализован на мембране ЭПР, в областях, сопряженных с мембранами митохондрий (МММ), где играет ключевую роль в модуляции клеточного гомеостаза, функционируя как молекулярный шаперон и регулятор сигнальных путей [9, 184, 219, 255, 295, 297]. Первоначально ошибочно классифицированный как подтип опиоидного рецептора, Sigma1R был впоследствии определен в самостоятельный класс после клонирования его гена в 1996 году.

Ген Sigma1R человека *SIGMAR1* расположен на хромосоме 9p13.3 и кодирует белок массой 25.3 кДа, состоящий из 223 аминокислот. Промоторная область гена *SIGMAR1* содержит несколько функциональных цис-элементов, включая сайты связывания транскрипционных факторов Sp1, AP-1 и NF-κB, что обеспечивает сложную регуляцию экспрессии рецептора в ответ на различные стимулы, включая клеточный стресс, факторы роста и провоспалительные цитокины [263]. Экспрессия *SIGMAR1* регулируется на

транскрипционном уровне рядом факторов, включая стресс ЭПР, который через активацию PERK–ATF4 сигнального пути индуцирует повышение уровня мРНК *SIGMAR1*, обеспечивая адаптивный ответ на стресс [226].

Шаперон Sigma1R подвергается нескольким посттрансляционным модификациям, включая фосфорилирование и пальмитирование, которые влияют на его стабильность, локализацию и функцию. Фосфорилирование Sigma1R осуществляется несколькими киназами, включая казеинкиназу 2 и протеинкиназу С. Фосфорилирование по определенным сериновым и треониновым остаткам влияет на способность рецептора к олигомеризации и взаимодействию с партнерными белками. В частности, фосфорилирование N-терминального цитоплазматического домена может модулировать ассоциацию Sigma1R с мембраной ЭПР и его подвижность в пределах мембранного компартмента [222]. Пальмитирование Sigma1R по цистеиновым остаткам важно для правильной мембранной локализации и функциональной активности рецептора. S-пальмитирование обеспечивает дополнительную стабилизацию белка в мембране и способствует его ассоциации с холестерин-обогащенными липидными микродоменами (рафтами), что необходимо для лиганд-зависимой транслокации Sigma1R к плазматической мембране [127].

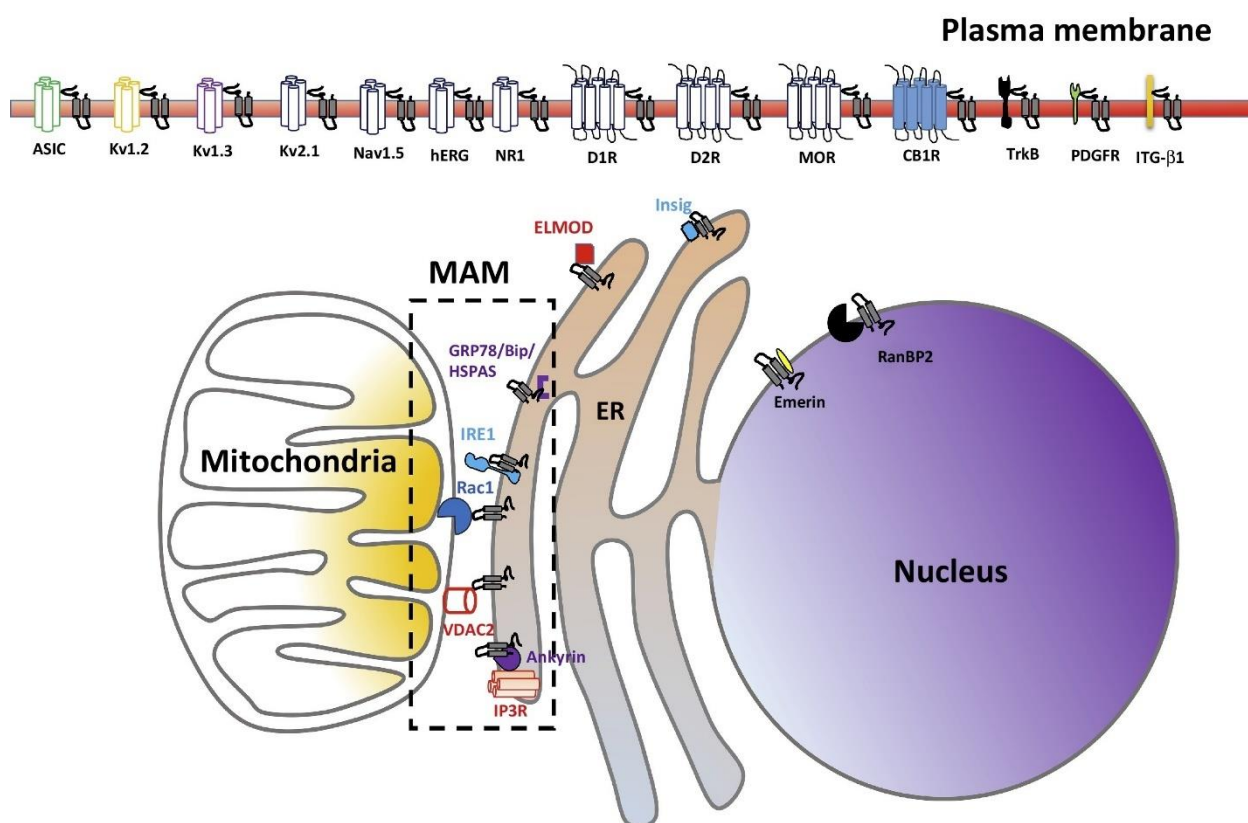
Кристаллографические исследования выявили тримерную архитектуру шаперона, каждый протомер которого содержит единственный трансмембранный домен. Рецептор имеет цитоплазматический N-конец и короткий внеклеточный C-конец. Важной особенностью Sigma1R является наличие двух трансмембранных спиралей, формирующих лиганд-связывающий карман, который связывает разнообразные по структуре соединения [256, 297]. Лиганд-связывающий домен характеризуется наличием богатой пролином области и кластера основных аминокислот, которые важны для взаимодействия с лигандами. Лиганд-связывающий домен Sigma1R обладает значительной конформационной пластичностью, позволяющей ему адаптироваться к лигандам различной химической

структуры и размера. Эта структурная адаптивность объясняет необычайно широкий спектр лигандов шаперона Sigma1R, различных по химическому строению и фармакологическим свойствам. Наличие консервативного остатка Glu172 является ключевым для распознавания катионных лигандов, содержащих протонированный аминный фрагмент, являющийся общим для большинства известных лигандов Sigma1R [60].

Структурные исследования выявили конформационные различия между агонист- и антагонист-связанными формами шаперона. Связывание антагониста PD144418 вызывает минимальные структурные перестройки, в то время как взаимодействие с агонистом (+)-пентазоцином сопровождается более значительными конформационными изменениями, затрагивающими петлевые области и межсубъединичные контакты [295]. Предполагается, что именно эти лиганд-индуцированные конформационные изменения определяют различные функциональные последствия связывания агонистов и антагонистов. При моделировании взаимодействий методом молекулярной динамики показано, что лиганд-связывающий карман Sigma1R находится в динамическом равновесии между несколькими конформационными подсостояниями, различающимися объемом и формой полости, а также степенью экспонированности к мембранному окружению [40]. Эта конформационная динамика важна для понимания механизма распознавания лигандов и может объяснять определенные аспекты фармакологической активности различных классов соединений.

Шаперон Sigma1R способен формировать гомоолигомеры различной стехиометрии, а также гетеромерные комплексы с другими рецепторами и белками, такими как NMDA-рецепторы, дофаминовые рецепторы и IP3-рецепторы (Рисунок 3) [293]. Олигомеризация является динамическим процессом, регулируемым лигандами и клеточными условиями, и играет ключевую роль в реализации шаперонных функций рецептора [107]. Исследования продемонстрировали, что в клеточных условиях существует динамическое равновесие между мономерами, димерами, тримерами и

высокомолекулярными олигомерами Sigma1R [222]. Агонисты преимущественно стабилизируют мономерную и димерную формы рецептора, в то время как антагонисты способствуют формированию высокомолекулярных олигомеров. Эта лиганд-зависимая регуляция олигомерного состояния рассматривается как один из механизмов, определяющих различные функциональные последствия связывания агонистов и антагонистов, так как мономерная/димерная форма обладает активной шаперонной функцией, а олигомерная форма определяет функционально неактивное состояние рецептора.



Примечание – Sigma1R показан в виде белка черного цвета. На основе рисунка из источника [325].

Рисунок 3 – Локализация и белки, взаимодействующие с Sigma1R

1.2.2 Внутриклеточные функции Sigma1R и роль в центральной нервной системе

В неактивном состоянии Sigma1R формирует стабильный комплекс с шапероном BiP (Binding immunoglobulin Protein) на мембране ЭПР (Рисунок 3). Эта локализация позволяет рецептору функционировать как сенсор клеточного стресса. Комплекс Sigma1R-BiP является ключевым регулятором активности рецептора. В базальных условиях BiP удерживает Sigma1R в инактивированном состоянии, препятствуя его взаимодействию с клиентными белками и транслокации к другим мембранным компартментам. Диссоциация комплекса инициируется двумя основными механизмами: связыванием специфических лигандов (агонистов) с лиганд-связывающим доменом Sigma1R, что вызывает конформационные изменения, несовместимые с удержанием BiP и изменениями клеточного гомеостаза, включая стресс ЭПР, при котором повышение концентрации неправильно свернутых белков приводит к конкурентному перераспределению BiP от Sigma1R к другим клиентным белкам [129]. Активация шаперона Sigma1R агонистами или клеточным стрессом приводит к его диссоциации от BiP и транслокации к другим клеточным компартментам, включая плазматическую мембрану, ядерную оболочку, митохондриально-ассоциированные мембраны и область постсинаптических уплотнений в нейронах. Эта способность к перемещению позволяет Sigma1R напрямую модулировать активность многих ионных каналов, рецепторов и компонентов сигнальных путей в различных компартментах клетки [286].

Кроме того, Sigma1R участвуют в регуляции стресса ЭПР и ответа на неправильно свернутые белки, стабилизируя IRE1 α , предотвращая его деградацию через протеасомный путь, что обеспечивает устойчивую активацию XBP1 и экспрессию генов, участвующих в адаптивном ответе на стресс ЭПР [226].

На плазматической мембране шаперон Sigma1R ассоциируется с липидными рафтами и осуществляет прямую модуляцию активности мембранных ионных каналов и рецепторов, включая NMDA-рецепторы, потенциал-зависимые калиевые каналы, кальциевые каналы L-типа и ряд других мишеней [175].

Sigma1R обнаружен во внутренней ядерной мембране, где он может влиять на транскрипционную активность через модуляцию ядерного транспорта транскрипционных факторов и регуляцию ядерных ионных каналов. Показано, что Sigma1R взаимодействует с компонентами ядерных пор и может модулировать транспорт мРНК [344].

Как упоминалось выше, МАМ являются основным местом локализации Sigma1R в базальных условиях. В ответ на стимуляцию агонистами количество Sigma1R в зонах МАМ может как увеличиваться, так и уменьшаться [129]. В нейронах Sigma1R обнаружен в области постсинаптических уплотнений, где он взаимодействует с NMDA-рецепторами и другими компонентами постсинаптического аппарата, участвуя в регуляции синаптической пластичности [210].

Локализация и функциональная активность Sigma1R тесно связаны с липидным составом мембран. Рецептор обладает высоким сродством к холестерину и способен связывать его непосредственно, о чем свидетельствуют данные фотоаффинного мечения и молекулярного моделирования [258]. Ассоциация Sigma1R с холестерин-обогащенными мембранными доменами определяет его локализацию в липидных рафтах как на мембране ЭПР, так и на плазматической мембране. Нарушение холестеринового гомеостаза приводит к изменению распределения Sigma1R и нарушению его функциональной активности. Sigma1R взаимодействует с другими мембранными липидами, включая сфинголипиды и фосфатидилинозитолфосфаты. Эти взаимодействия определяют микродоменную организацию Sigma1R на мембране ЭПР и формируют

мультимолекулярные комплексы, включающие Sigma1R, его клиентные белки и специфическое липидное окружение [381].

Шаперон Sigma1R играет важную роль в процессах синаптической пластичности, включая долговременную потенцию и долговременную депрессию. Sigma1R участвует в регуляции стресса ЭПР и ответа на неправильно свернутые белки стабилизируя IRE1 α , предотвращая его деградацию через протеасомный путь, что обеспечивает устойчивую активацию XBP1 и экспрессию генов, участвующих в адаптивном ответе на стресс ЭПР [226].

Мыши с нокаутом гена *Sigma1R* демонстрируют нарушения обучения и памяти, в то время как агонисты рецептора улучшают когнитивные функции в различных моделях. Этот эффект опосредован усилением NMDA-рецепторной передачи и трофической поддержкой [177].

Sigma1R активирует транскрипционный фактор Nrf2, что приводит к повышенной экспрессии антиоксидантных ферментов, включая гемоксигеназу-1, NQO1, супероксиддисмутазу, глутатион-S-трансферазу и каталазу. Активация данного пути обеспечивает защиту клеток от окислительного повреждения, которое играет ключевую роль в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [107]. Кроме того, Sigma1R подавляет активацию NF- κ B, являющегося транскрипционным фактором воспалительного ответа, снижая продукцию провоспалительных цитокинов, включая IL-1 β , IL-6, TNF- α и интерфероны [286]. Механизм ингибирования NF- κ B включает стабилизацию ингибиторного белка I κ B α , предотвращение его фосфорилирования киназами и, как следствие, блокирование ядерной транслокации комплекса NF- κ B. Этот противовоспалительный эффект Sigma1R имеет значение в контексте нейродегенеративных заболеваний, при которых хроническое нейровоспаление является одним из ключевых патогенетических механизмов.

Sigma1R участвует в регуляции аутофагии. Агонисты Sigma1R стимулируют формирование аутофагосом, что способствует клиренсу

токсических белковых агрегатов (α -синуклеина) [220]. Механизм регуляции аутофагии Sigma1R включает модуляцию активности mTOR (mechanistic target of rapamycin) и AMPK (AMP-activated protein kinase) сигнальных путей, а также влияние на экспрессию ключевых генов аутофагии.

Помимо регуляции кальциевого обмена между ЭПР и митохондриями, Sigma1R оказывает прямое влияние на митохондриальные функции. Агонисты Sigma1R усиливают активность комплекса I дыхательной цепи в физиологических условиях, что повышает эффективность окислительного фосфорилирования и синтез АТФ [107]. В условиях патологического окислительного стресса агонисты Sigma1R, напротив, оказывают протективное действие, предотвращая гиперактивацию дыхательной цепи и избыточную генерацию активных форм кислорода. Кроме того, Sigma1R стабилизирует морфологию митохондрий, поддерживая баланс между процессами деления и слияния митохондрий.

Sigma1R участвует в регуляции нейротрофинового сигналинга, в частности через модуляцию рецепторов тирозинкиназ семейства Trk. Показано, что агонисты Sigma1R усиливают фосфорилирование и активность TrkB-рецепторов – основных рецепторов мозгового нейротрофического фактора (BDNF), одного из ключевых нейротрофинов, регулирующих выживание нейронов, синаптическую пластичность и нейрогенез [124]. Механизм этого эффекта может включать шаперонную стабилизацию TrkB-рецепторов на поверхности мембраны, усиление их димеризации и модуляцию последующих сигнальных каскадов. Агонисты рецептора, такие как флувоксамин и SA4503, проявляют антидепрессивные и анксиолитические эффекты в исследованиях *in vivo*. Механизм данного действия связан с модуляцией моноаминергических систем, в частности серотонина, нейротрофических факторов (BDNF) и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [124].

Таким образом, множественность клеточных функций шаперона Sigma1R определяет его участие в патогенезе многих психических,

неврологических и нейродегенеративных заболеваний и механизмах действия нейротропных лекарственных средств, в том числе за счет модуляции активности мишеней, вовлеченных в реализацию фармакологического эффекта [13, 62, 144, 190, 198].

1.2.3 Шаперонная активность Sigma1R в отношении рецепторов и ионных каналов клеточной мембраны

Как было отмечено выше, Sigma1R модулирует активность множественных мембранных рецепторов и ионных каналов через прямые белок-белковые взаимодействия и шаперонную активность. Эта функция реализуется преимущественно после транслокации Sigma1R к плазматической мембране и является одним из ключевых механизмов, определяющих физиологическое и фармакологическое значение рецептора.

В условиях накопления белков с нарушенной пространственной конформацией вследствие стресса ЭПР, а также при лигандной активации, Sigma1R способен к внутриклеточной транслокации в составе липидных доменов в область плазматической мембраны, где осуществляется шаперонная функция в отношении различных ионных каналов, рецепторов и ферментов [129, 175, 325] (Рисунок 3). В частности, показано, что антагонистическое действие на Sigma1R способно снижать уровень шаперона в мембране клеточной поверхности и экспрессию α и β субъединиц ГАМК_A рецепторов *in vivo* [266]. Sigma1R-зависимое влияние на эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов может быть опосредовано шаперонными свойствами в отношении белков цитоплазматической мембраны, включенных в регуляцию тревоги и судорог [296], например, каннабиноидных (CB1R) [121, 209, 276, 293] и глутаматных NMDA рецепторов (GluN1, GluN2) [22, 31, 38, 50, 257] (Рисунок 3). Это предположение подтверждается способностью лигандов NMDA рецепторов и

CB1 рецепторов препятствовать развитию анксиолитического действия бензодиазепиновых транквилизаторов [101, 261].

Sigma1R усиливает активность NMDA-рецепторов, потенцируя глутаматергическую передачу и синаптическую пластичность, влияя на когнитивные функции, включая обучение и память. Молекулярный механизм включает прямое взаимодействие Sigma1R с GluN1 субъединицей NMDA-рецептора, стабилизацию рецепторного комплекса на поверхности мембраны и усиление его экспрессии на синаптической мембране [22, 257]. Агонисты Sigma1R увеличивают поверхностную экспрессию NMDA-рецепторов в нейронах гиппокампа, усиливая NMDA-опосредованные токи и долговременную потенцию. Этот эффект рассматривается как один из основных механизмов прокогнитивного действия агонистов Sigma1R.

Sigma1R ингибирует различные калиевые каналы, включая потенциал-зависимые (Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5) и Ca²⁺-активированные K⁺ каналы, влияя на возбудимость нейронов и продолжительность потенциала действия [177]. Механизм ингибирования включает прямое взаимодействие Sigma1R с цитоплазматическими доменами каналов, модуляцию их зависимости от мембранного потенциала и кинетики инактивации. В кардиомиоцитах Sigma1R модулирует Kv11.1 каналы, что имеет значение для регуляции сердечного ритма и объясняет кардиотропные эффекты некоторых лигандов Sigma1R [52].

Sigma1R также взаимодействует с потенциал-зависимыми натриевыми каналами Nav1.5 в кардиомиоцитах, модулируя амплитуду и кинетику натриевого тока. Это взаимодействие имеет значение для понимания кардиопротективных эффектов агонистов Sigma1R и кардиотоксичности некоторых лекарственных средств [21].

Sigma1R модулирует активность потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа (Cav1.2) и N-типа (Cav2.2). Взаимодействие с каналами L-типа в кардиомиоцитах влияет на сократительную функцию сердца, в то

время как модуляция каналов N-типа в нейронах регулирует пресинаптическое высвобождение нейротрансмиттеров [336].

Sigma1R формирует гетеромеры с дофаминовыми D1 и D2 рецепторами, а также с μ -опиоидными рецепторами, модулируя их сигналинг и внутриклеточный трафик. Взаимодействие с дофаминовыми рецепторами опосредует участие Sigma1R в дофаминергической нейротрансмиссии и играет роль в механизмах подкрепления, моторных функциях и патогенезе зависимости [168, 237].

Формирование гетеромерных комплексов шаперона Sigma1R с другими рецепторами представляет особый интерес для понимания механизмов нейромодуляции, опосредованной Sigma1R. Предполагается, что в контексте рецепторных гетеромеров Sigma1R является аллостерическим модулятором, влияющим на фолдинг, конформацию, фармакологические свойства и внутриклеточный трафик рецепторов.

1.2.4 Агонисты Sigma1R

Фармакологическая классификация лигандов Sigma1R на агонисты и антагонисты основана на их способности модулировать конформационное состояние шаперона, его олигомеризацию и взаимодействие с клиентными белками. В отличие от классических рецепторов, в случае Sigma1R эти понятия отражают более сложные конформационные изменения [296]. Агонисты Sigma1R демонстрируют нейропротективные, антидепрессивные и противовоспалительные эффекты, что делает рецептор привлекательной мишенью для терапии широкого спектра заболеваний, включая нейродегенеративные, неврологические и психические расстройства [324].

Агонисты Sigma1R индуцируют диссоциацию рецептора от BiP, способствуют его транслокации к плазматической мембране и активируют шаперонную функцию в отношении клиентных белков. Антагонисты

Sigma1R, напротив, стабилизируют комплекс Sigma1R-BiP, ингибируют транслокацию рецептора и блокируют его шаперонную активность [129].

Кристаллографические исследования комплексов Sigma1R с различными лигандами позволили частично расшифровать структурную основу селективности. Агонисты, как правило, характеризуются более компактной молекулярной геометрией и занимают меньший объем в лиганд-связывающем кармане, что позволяет С-концевой крышке β -барреля сохранять конформационную подвижность. Антагонисты обладают более протяженными молекулярными каркасами, жестко фиксирующими крышку в закрытом положении и стабилизирующими олигомерную форму шаперона [295]. Однако данная модель не является универсальной, и для ряда лигандов классификация остается предметом дискуссий, поскольку некоторые соединения проявляют свойства агонистов или демонстрируют контекст-зависимый фармакологический профиль [325].

(+)-Пентазоцин является одним из наиболее широко используемых эталонных агонистов Sigma1R с высокой аффинностью ($K_i \approx 5-10$ нМ) и выраженной стереоселективностью. (+)-энантиомер обладает более чем 100-кратной селективностью в отношении Sigma1R по сравнению с (-)-энантиомером, который преимущественно взаимодействует с опиоидными рецепторами [324]. (+)-Пентазоцин индуцирует диссоциацию комплекса Sigma1R-BiP, стимулирует транслокацию шаперона и потенцирует активность NMDA-рецепторов, продемонстрировав нейропротективные эффекты в моделях ретинальной дегенерации [233], ишемического инсульта [348] и нейротоксичности [366].

PRE-084 (2-(4-морфолиноэтил)-1-фенилциклогексан-1-карбоксилат) представляет собой селективный агонист Sigma1R ($K_i \approx 44$ нМ) с минимальной аффинностью к Sigma2R и другим рецепторным системам. PRE-084 является наиболее часто используемым агонистом в экспериментальных исследованиях *in vivo*, продемонстрировавшим нейропротективные свойства в моделях амиотрофического латерального

склероза, болезни Паркинсона, инсульта и травматического повреждения спинного мозга [208]. Механизмы нейропротективного действия PRE-084 включают усиление трофической поддержки через BDNF, стабилизацию митохондриальной функции и модуляцию нейровоспаления.

SA4503 (кутамезин, 1-(3,4-диметоксифенэтил)-4-(3-фенилпропил)пиперазин) – высокоаффинный агонист Sigma1R ($K_i \approx 4,6$ нМ) с примерно 100-кратной селективностью по отношению к Sigma2R. SA4503 прошел клинические испытания фазы II при депрессивном расстройстве и ишемическом инсульте [124]. В доклинических исследованиях SA4503 продемонстрировал антидепрессивные эффекты, сопоставимые с классическими антидепрессантами, а также нейропротективное действие, связанное с усилением экспрессии BDNF и стимуляцией нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа [124].

Флувоксамин – селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС), обладающий выраженной аффинностью к Sigma1R ($K_i \approx 36$ нМ), значительно превышающей таковую других СИОЗС [235]. Sigma1R-агонистическая активность флувоксамина рассматривается как важный фармакологический компонент, отличающий его от других СИОЗС и обеспечивающий нейропротективные и про-когнитивные эффекты. Флувоксамин через Sigma1R потенцирует секрецию BDNF из астроцитов, стабилизирует мембранные рецепторы на нейрональной поверхности и модулирует ответ на стресс ЭПР [124]. Помимо этого, Sigma1R-агонистическая активность флувоксамина привлекла внимание в контексте терапии COVID-19, где препарат продемонстрировал снижение тяжести заболевания, предположительно через IRE1 α /XBP1-зависимый противовоспалительный механизм [281].

Помимо нейропротективных и антидепрессивных эффектов, в последние годы возрастает интерес к противосудорожному потенциалу агонистов Sigma1R. В различных моделях показаны противосудорожные эффекты агонистов и положительных модуляторов Sigma1R [209].

Предполагается, что противосудорожный эффект таких соединений, как фенфлурамин, бларкамезин, SKF-10.047, карамифен реализуется через многоуровневые механизмы, направленные на восстановление нейронального баланса и клеточного гомеостаза. [356].

Наиболее изученным с клинической точки зрения является фенфлурамин, эффект которого основывается на двойном фармакологическом действии: серотонинергическое действие и позитивная модуляция Sigma1R. Серотонинергический компонент преимущественно усиливает ГАМК-ергическое торможение через активацию 5-HT_{2C} рецепторов, в то время как Sigma1R компонент модулирует работу NMDA-рецепторов и внутриклеточный обмен Ca²⁺, подавляя глутаматергическую гиперактивность и эксайтотоксичность. Синергичный подход лежит в основе высокой эффективности фенфлурамина при тяжелых эпилептических энцефалопатиях, таких как синдром Драве, где он демонстрирует не только противосудорожный, но и улучшающий когнитивные функции эффект [94]. Бларкамезин (ANAVEX2-73), также проходящий клинические исследования, сочетает агонистическую активность в отношении Sigma1R с влиянием на мускариновые ацетилхолиновые рецепторы. Активируя Sigma1R, препарат стабилизирует взаимодействия между эндоплазматическим ретикуломом и митохондриями, поддерживая энергетический баланс клетки, уменьшая окислительный стресс и предотвращая гибель нейронов [55]. Подобное воздействие на фундаментальные клеточные процессы важно при состояниях, где судороги сопутствуют нейродегенерации, например, при синдроме Ретта или инфантильных спазмах [205]. Агонисты Sigma1R SKF-10.047, карамифен, флувоксамин и опипрамол обладают противосудорожным эффектом, продемонстрированным в многочисленных моделях, который обеспечивается общими для активации Sigma1R путями. Лиганды модулируют ионные каналы влияя на функцию NMDA⁻, Na⁺ и K⁺-каналов, способствуя стабилизации мембранного потенциала [116]. При этом, противосудорожная активность SKF-10.047, реализуемая посредством

агонистической активности к Sigma1R , сопровождается атаксиями и поведенческими эффектами, что не позволяет проводить дальнейшие клинические исследования. Карамифен имеет умеренное сродство к Sigma1R и более высокий аффинитет к мускариновым M1 -рецепторам являясь их блокатором [356]. Флувоксамин является антидепрессантом с высокой аффинностью к Sigma1R и выраженными нейропротективными и противовоспалительными эффектами. В работах последних лет флувоксамин рассматривают как потенциальный препарат для фармако-резистентной эпилепсии, уменьшающий нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера и подавляющий ферроптоз эндотелиальных клеток [117]. Опипрамол, являющийся трициклическим анксиолитиком, на моделях острых судорог, вызванных PTZ, обладает противосудорожным свойством [164], однако данные не подтверждаются на других моделях. Такие селективные агонисты Sigma1R как, например, SA4503, обладают нейропротекцией и улучшают синаптическую пластичность, однако, на данный момент не изучались на наличие противосудорожной активности. Важно отметить, что механизмы противосудорожных эффектов, опосредованных лигандами Sigma1R не ясны, и их раскрытие требует специальных исследований.

Фабомотизол (Афобазол®, 5-этоксипиридин-2-[(морфолино)этилтио]бензимидазола дигидрохлорид) представляет собой оригинальный отечественный анксиолитик, обладающий мультитаргетным фармакологическим профилем с выраженной аффинностью к шаперону Sigma1R . Радиолигандные исследования продемонстрировали, что фабомотизол связывается с Sigma1R с константой ингибирования $K_i \approx 5,9$ мкМ [1]. Фабомотизол проявляет свойства агониста Sigma1R и индуцирует транслокацию рецептора из эндоплазматического ретикулума к клеточной мембране, стимулирует диссоциацию комплекса Sigma1R-BiP и активирует шаперонную функцию рецептора в условиях клеточного стресса [4, 5, 363]. Известно, что введение фабомотизола нормализует двигательные функции,

предотвращает снижение уровня дофамина в стриатуме и гибель нейронов после введения 6-гидроксидофамина [301, 360]. Предварительное введение селективного антагониста BD-1047 устраняло действие фабомотизола, что подтверждалось результатами поведенческих тестов [361].

В поведенческих исследованиях фабомотизол продемонстрировал анксиолитическую активность, не сопровождающуюся седативным, миорелаксантным и амнестическим эффектами, характерными для бензодиазепиновых анксиолитиков [1, 239]. Анксиолитический эффект фабомотизола имеет генотип-зависимый характер и наиболее эффективен у животных с исходно высоким уровнем тревожности, что согласуется с концепцией модулирующей роли Sigma1R в регуляции эмоционального поведения [6].

1.2.5 Антагонисты Sigma1R

Антагонисты Sigma1R представляют фармакологически значимый класс лигандов, стабилизирующих комплекс Sigma1R-BiP, ингибирующих транслокацию рецептора и блокирующих его шаперонную активность. Функциональные последствия антагонизма Sigma1R существенно зависят от патологического контекста. В условиях нейродегенерации и ишемии агонисты проявляют преимущественно протективные свойства, а антагонисты демонстрируют терапевтический потенциал при состояниях, ассоциированных с гиперактивацией Sigma1R-зависимых сигнальных путей, включая болевые синдромы, наркотическую зависимость и ряд онкологических заболеваний [279].

NE-100 (4-метокси-3-(2-фенилэтокси)-N,N-дипропилбензиламин гидрохлорид) является одним из первых высокоселективных антагонистов Sigma1R ($K_i \approx 1,5$ нМ), широко используемым в качестве фармакологического инструмента для верификации Sigma1R-зависимости наблюдаемых эффектов. NE-100 блокирует эффекты агонистов Sigma1R,

включая нейропротективное действие (+)-пентазоцина и PRE-084, подавляет потенцирующее влияние Sigma1R-агонистов на NMDA-рецепторную функцию и предотвращает транслокацию рецептора [247]. В поведенческих исследованиях NE-100 проявляет анксиолитические свойства в ряде тестов, и может объясняться подавлением избыточной Sigma1R-зависимой модуляции стрессовых систем [180].

BD-1047 (N'-[2-(3,4-дихлорфенил)этил]-N,N,N'-триметилэтилендиамин дигидробромид) представляет собой селективный антагонист Sigma1R ($K_i \approx 0,6-4$ нМ) с умеренной селективностью по отношению к Sigma2R. BD-1047 является одним из наиболее часто используемых фармакологических инструментов для доказательства зависимости от Sigma1R различных фармакологических эффектов. В исследованиях боли BD-1047 продемонстрировал анальгетическую активность в моделях нейропатической боли, усиливая эффекты опиоидных анальгетиков и снижая развитие опиоидной толерантности [358]. BD-1047 также блокирует цитопротективные эффекты фабомотизола и других Sigma1R-агонистов, подтверждая участие рецептора в механизмах клеточной защиты [361].

BD-1063 (1-[2-(3,4-дихлорфенил)этил]-4-метилпиперазин дигидрохлорид) является структурным аналогом BD-1047 с несколько иным фармакокинетическим профилем и сопоставимой аффинностью к Sigma1R ($K_i \approx 9$ нМ). BD-1063 используется в качестве альтернативного инструментального антагониста и продемонстрировал эффективность в блокаде эффектов кокаина, опосредованных Sigma1R, а также в моделях хронической боли [214].

Галоперидол, будучи классическим антипсихотическим средством и антагонистом дофаминовых D2-рецепторов, обладает также высокой аффинностью к Sigma1R ($K_i \approx 2-6$ нМ), являясь антагонистом рецептора. Антагонистическая активность галоперидола рассматривается как один из компонентов его сложного фармакологического профиля, потенциально вносящий вклад как в терапевтические, так и в побочные эффекты препарата

[57]. Метаболит галоперидола также сохраняет аффинность к $\text{Sigma}1\text{R}$, что обеспечивает пролонгированное воздействие на рецептор в условиях хронической терапии. Галоперидол стабилизирует олигомерное состояние $\text{Sigma}1\text{R}$, что было продемонстрировано кристаллографическими исследованиями и методами химического сшивания, подтверждая его антагонистический механизм действия [297].

S1RA (E-52862, 4-[2-[[5-метил-1-(2-нафтил)-1H-пиразол-3-ил]окси]этил]морфолин) представляет собой высокоселективный антагонист $\text{Sigma}1\text{R}$ ($K_i \approx 17$ нМ), разработанный для клинического применения в качестве анальгетика. S1RA является единственным селективным антагонистом $\text{Sigma}1\text{R}$, достигшим фазы II клинических испытаний при невропатической боли. В доклинических исследованиях S1RA продемонстрировал выраженную анальгетическую активность в моделях невропатической и воспалительной боли, потенцировал эффекты опиоидных анальгетиков без усиления их побочных эффектов [279]. Механизм анальгетического действия S1RA связан с подавлением зависимой от $\text{Sigma}1\text{R}$ сенситизации NMDA-рецепторов в спинальных нейронах и модуляцией взаимодействия $\text{Sigma}1\text{R}$ с μ -опиоидными рецепторами, что усиливает эндогенную опиоидную анальгезию [291].

В контексте эпилепсии и судорожной активности роль антагонистов шаперон $\text{Sigma}1\text{R}$ остается неоднозначной и во многом контекст-зависимой. С одной стороны, антагонисты $\text{Sigma}1\text{R}$ способны блокировать NMDA-рецепторную потенциацию, что теоретически может снижать глутаматергическую гиперактивность и оказывать противосудорожное действие. С другой стороны, подавление шаперонной функции $\text{Sigma}1\text{R}$ антагонистами может нарушать нейропротективные механизмы и усугублять нейродегенеративные процессы, сопровождающие хроническую эпилепсию [356]. В ряде экспериментальных работ показано, что антагонисты $\text{Sigma}1\text{R}$ NE-100 и BD-1047 блокируют противосудорожные эффекты агонистов, однако при самостоятельном введении не проявляют выраженной про- или

противосудорожной активности, что свидетельствует о модулирующей, а не тонической роли Sigma1R в регуляции судорожного порога [116]. Двойственность эффектов лигандов Sigma1R при эпилепсии подчеркивает необходимость детального изучения рецепторных механизмов в зависимости от типа судорог, стадии заболевания и сопутствующих патологических процессов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Реактивы

При выполнении экспериментальной работы использовали следующие лиганды Sigma1R:

1. BD-1047 hydrobromide (N'-[2-(3,4-dichlorophenyl)ethyl]-N,N,N'-trimethylethane-1,2-diamine, Tocris Bioscience, Bristol, UK);
2. PRE-084 hydrochloride (2-(morpholin-4-yl)ethyl 1-phenylcyclohexanecarboxylate, Tocris Bioscience, Bristol, UK);
3. Фабомотизол (5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио] бензимидазола дигидрохлорид, АО «Отисифарм», Москва, Россия).

При исследовании влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на пороги судорожных реакций в моделях экспериментальных судорог у мышей использовались следующие реактивы и растворители: диазепам (7-Хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он, АО «Органика», Новокузнецк, Россия), полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ 400, Sigma-Aldrich, Burlington, MA, USA), пентилентетразол (PTZ) (6,7,8,9-tetrahydro-5H-tetrazolo[1,5-a]azepine, Sigma Aldrich, Burlington, MA, United States), биккукуллин (BIC) ((+)-Bicuculline, Sigma Aldrich, Burlington, MA, United States) пикротоксин (PIC) (picrotoxin, Sigma Aldrich, Burlington, MA, United States), диметилсульфоксид (ДМСО, Corning, Manassas, VA, USA).

Для внутривенного введения использовали различные концентрации PTZ в физиологическом растворе; растворы биккукуллина и пикротоксина приготавливали с помощью 50 мкл растворителя ДМСО и довели до необходимой концентрации физиологическим раствором [264, 302]. Использование ДМСО для приготовления растворов для введения *in vivo* в концентрациях менее 1% считается безопасным и не сказывающимся на показателях при моделировании острых судорог [142]. Растворы для внутрибрюшинного введения PTZ в дозе 30 мг/кг, диазепам, агонистов и

антагонистов Sigma1R в необходимых дозах готовили непосредственно перед экспериментом. Диазепам растворяли в 20 % водном растворе ПЭГ 400 [25].

При исследовании влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора использовались следующие реактивы и растворители: пентобарбитал натрия, диазепам (7-Хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он, АО «Органика», Новокузнецк, Россия), полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ 400, Sigma-Aldrich, Burlington, MA, USA).

При исследовании влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора использовались следующие реактивы и растворители: изоаллопрегнанолон ацетат (ISO, 5 α -Pregnan-3 β -ol-20-one 3 β -acetate, Sigma-Aldrich, Burlington, MA, USA), аллопрегнанолон (ALLO, 5 α -Pregnan-3 α -ol-20-one, Tocris Bioscience, Bristol, UK), метилен хлористый (ХИММЕД, Москва, Россия), масло кукурузное (ООО «Диал Экспорт», Ступино, Россия).

Исходя из опыта использования ацетатных солей стероидных соединений [319], метаболизирующихся до активных молекул эстеразами [154], для изучения эффектов изоаллопрегнанолон использовали изоаллопрегнанолон ацетат (далее ISO). Стоковые растворы ALLO и ISO готовили в 100 мкл дихлорметана. До необходимой концентрации раствор доводили добавлением кукурузного масла непосредственно перед подкожным введением [259]. Лиганды Sigma1R BD-1047 [213] и PRE-084 [326] растворяли в физиологическом растворе для инъекций непосредственно перед внутрибрюшинным введением из расчета 0,1 мл на 10 г массы животного за 60 мин до начала эксперимента.

2.2 Экспериментальные животные

Для исключения влияния на эффекты изучаемых соединений гормонального цикла, исследования проводили на самцах мышей ICR (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН НЦБМТ ФМБА России), Московская область, Красногорский район, пос. Светлые Горы, Россия, филиал «Столбовая»). Животные имели ветеринарный сертификат и были адаптированы в виварии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Условия содержания животных соответствовали:

1. ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание)»;

2. ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Переиздание)»;

3. Рекомендациям Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 №33 «О руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

Животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (температура 20–24 °С, влажность 45–65 %, 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. 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). При работе с лабораторными животными соблюдены национальные [236] и международные [146] рекомендации. Дизайн экспериментов *in vivo* соответствовал принципам 3R [287]. Обработку экспериментальных установок после тестирования проводили с применением 20% раствора «Pursept-A Xpress» (Merz Pharma GmbH and Co.KGaA, Germany) [139]. Для расчета размеров экспериментальных выборок использовали анализ статистической мощности.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Моделирование острых судорог у мышей

Для внутривенного введения PTZ, ВИС или PIC экспериментальных животных помещали в прозрачный бокс из плексигласа с отверстиями, обеспечивающими вентиляцию, удерживание за хвост и доступ к боковой хвостовой вене. Животное сохраняло подвижность в боксе. Иглу 27G с подсоединенной инфузионной канюлей вводили в боковую хвостовую вену [135], предварительно прогрев место введения инфракрасной лампой в соответствии с рекомендациями [111]. PTZ, ВИС или PIC вводили с постоянной скоростью с использованием контроллера «MD-1020-K BASi Bee Hive Controller 240V/50 Hz» и шприцевого насоса «MD-1001 BASi Bee Baby Bee syringe drive» (BASi Corporate Headquarters, West Lafayette, США). Точность попадания в вену и отсутствие тромбообразования оценивали по наличию крови в катетере. Порог судорог определяли в соответствии с минимальной дозой PTZ, ВИС или PIC, вызывающей судороги. Введение

прекращали в момент начала генерализованных тонических судорог. Клонические подергивания, генерализованные клонические судороги и генерализованные тонические судороги регистрировали с помощью видеокамеры и оценивали в соответствии с критериями, описанными в работе [245, 352]. Для клонических подергиваний характерны однократные подергивания шеи, морды и конечностей, для генерализованных клонических судорог – периодичные клонические судороги конечностей и всего тела с возможным падением на бок. Для генерализованных тонических судорог характерно тоническое разгибание тела и конечностей.

2.3.2 Модель пентилентетразолового киндлинга

Тестирование проводили в соответствии с ранее описанной методикой [76]. PTZ вводили в субконвульсивной дозе 30 мг/кг внутривенно 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 в процессе эксперимента определяли в соответствии со шкалой Расина, модифицированной Ицхаком и Мартином [267] (Рисунок 4).

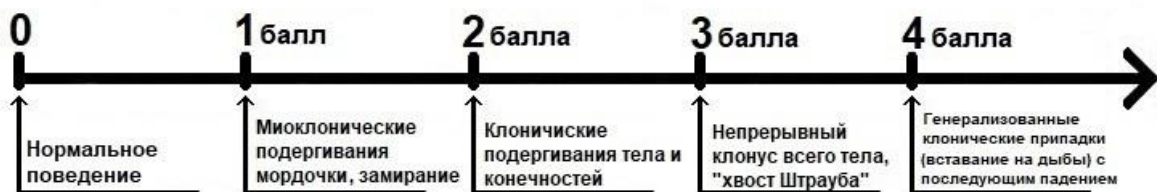


Рисунок 4 – Показатель лимбических судорог в баллах по шкале Расина

2.3.3 Модель барбитурового сна, вызванного пентобарбиталом

С целью оценки влияния лигандов Sigma1R на фармакологические эффекты, зависящие от участка связывания барбитуратов ГАМК_A рецептора, был проведен эксперимент на модели сна, вызванного пентобарбиталом на мышах. Внутривентриальное введение лигандов Sigma1R или их растворителей являлось точкой (временем) начала эксперимента. 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 (Рисунок 5). Сразу после введения пентобарбитала мышей помещали в индивидуальные прозрачные контейнеры из оргстекла с отверстиями для вентиляции.

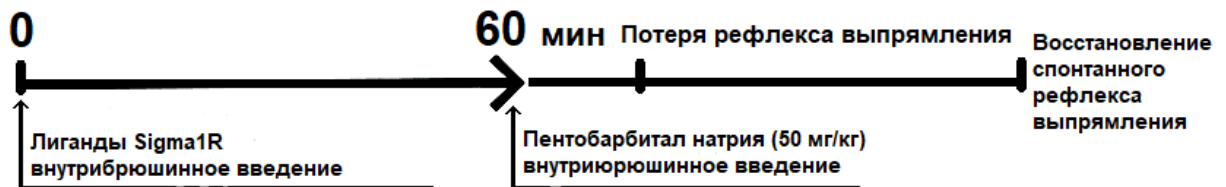


Рисунок 5 – Схема модели барбитурового сна, вызванного пентобарбиталом

2.3.4 Тест подвешивания за хвост

Тест подвешивания за хвост проводили в соответствии со стандартным протоколом [45, 322]. Экспериментальных животных рандомизировали с помощью специального программного обеспечения (BIOSEB Pinellas Park, США) и помещали в номерные боксы из плексигласа. Измерения проводили на аппарате «BIO-TST4» (BIOSEB, Pinellas Park, США). Для подвешивания мышей использовали липкую ленту «Omniplast–1,25 см» (HARTMANN,

Germany), которую крепили в область середины хвоста. Ленту надежно прикрепляли к хвосту таким образом, чтобы выдержать вес тестируемой мыши, не причиняя животному дискомфорта и боли. Для тестирования мышь помещали в один из трех экспериментальных отсеков прибора и прикрепляли свободной частью ленты за тензодатчик. В течение 6 минут регистрировали время иммобильности (с) посредством анализа видеофайлов (для экспериментов с ALLO) или регистрации показаний тензодатчика аппарата (для экспериментов с ISO). В экспериментах с ISO дополнительно регистрировали энергию и силу движений животных, выраженные в условных единицах (усл. ед).

2.3.5 Тест приподнятый крестообразный лабиринт

Для адаптации мышей переводили в комнату для тестирования поведения за 30 минут до начала первого введения соединений. Тест приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) проводили на установке «Open Science» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) в соответствии со стандартным протоколом [174]. Экспериментальная установка была приподнята на 40 см над поверхностью пола. Длина и ширина рукавов теста составляли 30 см, центральная область представлена квадратом 5×5 см. Высота стенок закрытых рукавов составляла 15 см. Открытые рукава освещали неярким рассеянным светом. Животное помещали в центральную часть установки ПКЛ, после чего в течение 5 мин измеряли время нахождения экспериментальных животных в открытых, закрытых рукавах, центральной части, количество заходов в открытые и закрытые рукава. Животное считали переместившимся, если все 4 конечности находились в рукаве. Тест длился 5 минут. Для каждого животного фиксировали время, проведенное в открытых рукавах, время, проведенное в закрытых рукавах, количество заходов в открытые рукава, количество заходов в закрытые

рукава. Процент нахождения и входов в открытые рукава рассчитывали как отношение числа заходов (или времени) в открытые рукава к общему числу заходов (или общему времени). Первичные экспериментальные данные рассчитывали согласно [93].

2.4 Экспериментальные группы

Экспериментальных животных за 48 часов до начала проведения исследования перемещали в комнату, в которой будет проводиться исследование. Каждую мышь взвешивали. В экспериментальные группы не включали животных с массами тела, отличавшимися от средних значений. Далее животных маркировали, нанося порядковый номер на основании хвоста химически нейтральным маркером. Данные по нумерации животных вносили в программу «RandoMice v1.1.7» [351], в которой производили рандомизацию и включение животных в экспериментальные группы с учетом минимальных разбросов по массе тела. При подборе условий модели внутривенного введения пентилентетразола, мышей ICR разделили на шесть групп с разными параметрами концентрации и скорости введения PTZ [354] (Таблица 1).

Таблица 1 – Экспериментальные группы при подборе условий внутривенного введения PTZ

Группа	Предварительное введение (за 30 мин)	Концентрация PTZ, %	Скорость введения, мкл/с	Количество животных, n
1	20% ПЭГ400 (растворитель)	1%	6 мкл/с	8
2	20% ПЭГ400 (растворитель)	1%	12 мкл/с	8
3	20% ПЭГ400 (растворитель)	0.5%	6 мкл/с	8
4	Диазепам (0.5 мг/кг)	1%	12 мкл/с	8
5	Диазепам (0.5 мг/кг)	1%	6 мкл/с	8
6	Диазепам (0.5 мг/кг)	0.5%	12 мкл/с	8

Для установления дозы диазепама, обеспечивающей противосудорожное действие, в модели судорог, вызванных внутривенным введением пентилентетразола, мышей ICR разделили на четыре группы (Таблица 2):

Таблица 2 – Экспериментальные группы при исследовании противосудорожной активности диазепама на модели судорог, вызванных PTZ

Группа	Предварительное введение (за 30 мин)	Концентрация PTZ, %	Скорость введения, мкл/с	Количество животных, n
1	20% ПЭГ400 (растворитель)	1%	6 мкл/с	8
2	Диазепам (0.5 мг/кг)	1%	6 мкл/с	8
3	Диазепам (0.75 мг/кг)	1%	6 мкл/с	8
4	Диазепам (1 мг/кг)	1%	6 мкл/с	8

Вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 6.

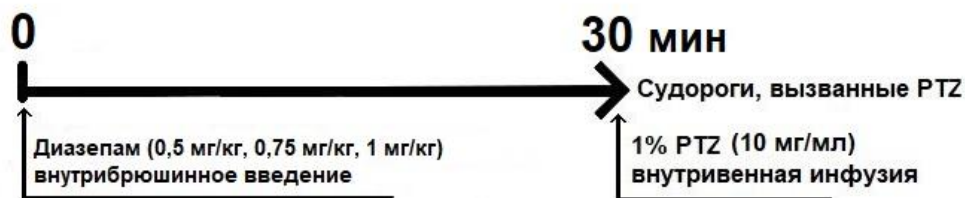


Рисунок 6 – Схема введения диазепама при валидации экспериментальной модели внутривенного введения PTZ мышей

При подборе условий модели внутривенного введения PIC и VIC, мышей ICR случайным образом разделили на группы с разными параметрами концентрации и скорости введения, определенных на основе литературных данных [29, 354] (Таблица 3).

Таблица 3 – Экспериментальные группы при подборе условий внутривенного введения PIS и BIS

Группа	Предварительное введение (за 30 мин)	Концентрация, %	Скорость введения, мкл/с	Количество животных, n
1	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,2% PIS	6 мкл/с	8
2	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,2% PIS	12 мкл/с	8
3	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,4% PIS	6 мкл/с	8
4	Диазепам (1 мг/кг)	0,4% PIS	6 мкл/с	10
5	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,01% BIS	6 мкл/с	9
6	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,01% BIS	12 мкл/с	8
7	20% ПЭГ400 (растворитель)	0,02% BIS	6 мкл/с	9
8	Диазепам (1 мг/кг)	0,02% BIS	6 мкл/с	8

На основании литературных данных для изучения влияния лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом были выбраны дозы антагониста Sigma1R BD-1047 – 1, 10 и 20 мг/кг и дозы агониста Sigma1R PRE-084 – 5 и 20 мг/кг [113, 206, 215, 299]. При проведении исследования действия лигандов Sigma1R мыши ICR были разделены на следующие группы (Таблица 4):

Таблица 4 – Экспериментальные группы при изучении влияния лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных PTZ

Группа	Предварительное введение 1 (за 90 мин)	Предварительное введение 2 (за 30 мин)	Количество животных, n
Изучение влияния антагониста Sigma1R BD-1047			
1	0,9% NaCl	20% ПЭГ400 (растворитель)	10
2	BD-1047 (1 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	11
3	BD-1047 (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	10
4	BD-1047 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	9
5	0,9% NaCl	Диазепам (1 мг/кг)	8
6	BD-1047 (1 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	5
7	BD-1047 (10 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	8
8	BD-1047 (20 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	7
Изучение влияния агониста Sigma1R PRE-084			
1	0,9% NaCl	20% ПЭГ400 (растворитель)	12
2	PRE-084 (5 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	12
3	PRE-084 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	10
4	0,9% NaCl	Диазепам (1 мг/кг)	9
5	PRE-084 (5 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	9
6	PRE-084 (20 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	10

Вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 7.

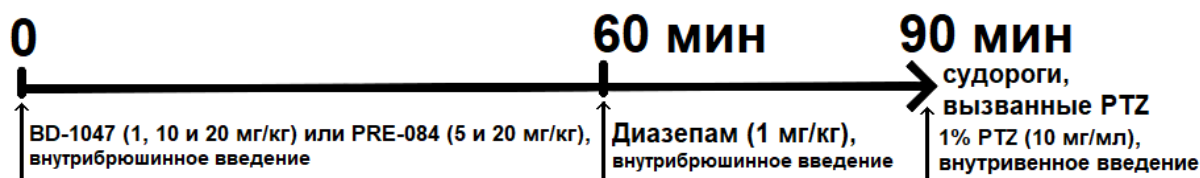


Рисунок 7 – Схема введения препаратов в модели экспериментальных пентилентетразоловых (PTZ) судорог у мышей

При изучении влияния агониста Sigma1R фабомотизола на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом, экспериментальные животные случайным образом были распределены на следующие группы (Таблица 5):

При изучении влияния антагониста Sigma1R BD-1047 на эффекты фабомотизола на модели острых судорог, вызванных PTZ, ВИС и РС, экспериментальные животные случайным образом распределяли на следующие группы (Таблица 6), вещества которым вводили согласно схеме, представленной на рисунке 9.

Таблица 5 – Экспериментальные группы при изучении влияния агониста Sigma1R фабомотизола на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных PTZ

Группа	Предварительное введение 1 (за 90 мин)	Предварительное введение 2 (за 30 мин)	Количество животных, n
1	0,9% NaCl	20% ПЭГ400 (растворитель)	9
2	Фабомотизол (5 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	9
3	Фабомотизол (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	9
4	Фабомотизол (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	9
5	0,9% NaCl	Диазепам (1 мг/кг)	9
6	Фабомотизол (5 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	9
7	Фабомотизол (10 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	8
8	Фабомотизол (20 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	7

Вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 8.



Рисунок 8 – Схема введения фабомотизола и диазепама в модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением PTZ

Таблица 6 – Экспериментальные группы при изучении влияния антагониста Sigma1R BD-1047 на эффекты фабомотизола на модели острых судорог, вызванных PTZ, BIC и PIC

Группа	Предварительное введение 1 (за 90 мин)	Предварительное введение 2 (за 30 мин)	Количество животных, n
Модель острых судорог, вызванных внутривенным введением PTZ (Рисунок 9А)			
1	0,9% NaCl	0,9% NaCl	10
2	0,9% NaCl	Фабомотизол (20 мг/кг)	10
3	BD-1047 (20 мг/кг)	Фабомотизол (20 мг/кг)	9
Модель острых судорог, вызванных внутривенным введением BIC (Рисунок 9Б)			
1	0,9% NaCl	0,9% NaCl	8
2	0,9% NaCl	Фабомотизол (20 мг/кг)	8
3	BD-1047 (20 мг/кг)	Фабомотизол (20 мг/кг)	8
Модель острых судорог, вызванных внутривенным введением PIC (Рисунок 9В)			
1	0,9% NaCl	0,9% NaCl	8
2	0,9% NaCl	Фабомотизол (20 мг/кг)	8
3	BD-1047 (20 мг/кг)	Фабомотизол (20 мг/кг)	8



Рисунок 9 – Схема введения антагониста Sigma1R BD-1047 и фабомотизола в модели судорог у мышей, вызванных PTZ (А), BIC (Б) и PIC (В)

При изучении влияния лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных ВИС и РС экспериментальные животные случайным образом распределены на следующие группы (Таблица 7):

Таблица 7 – Экспериментальные группы при изучении влияния лигандов Sigma1R BD-1047 и PRE-084 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных ВИС и РС

Модель острых судорог, вызванных внутривенным введением ВИС			
1	0,9% NaCl	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
2	BD-1047 (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
3	BD-1047 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
4	PRE-084 (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
5	PRE-084 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
6	0,9% NaCl	Диазепам (1 мг/кг)	8
Модель острых судорог, вызванных внутривенным введением РС			
1	0,9% NaCl	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
2	BD-1047 (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
3	BD-1047 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
4	PRE-084 (10 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
5	PRE-084 (20 мг/кг)	20% ПЭГ400 (растворитель)	8
6	0,9% NaCl	Диазепам (1 мг/кг)	8

Вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 7, с учетом того, что судорожными агентами являлись ВИС и РС.

При изучении влияния агониста Sigma1R фабомотизола на модели пентилентетразолового киндлинга экспериментальные животные были разделены на две группы:

1. Контрольная группа (0,9% NaCl, n = 9);
2. Фабомотизол в дозе 20 мг/кг (n = 8).

Фабомотизол или физиологический раствор вводили за 60 мин до РТЗ.

При исследовании влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора мышей ICR разделили на следующие экспериментальные группы (Таблица 8):

Таблица 8 – Экспериментальные группы при изучении влияния влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от барбитурового сайта связывания ГАМК_A рецептора

Группа	Предварительное введение (за 60 мин)	Начало теста	Количество животных, n
Изучение влияния антагониста Sigma1R BD-1047			
1	0,9% NaCl	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
2	BD-1047 (1 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
3	BD-1047 (10 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
1	0,9% NaCl	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
2	PRE-084 (1 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	9
3	PRE-084 (5 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	9
1	0,9% NaCl	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
6	Фабомотизол (1 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10
7	Фабомотизол (5 мг/кг)	Пентобарбитал натрия (50 мг/кг)	10

Исследуемые вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 10.

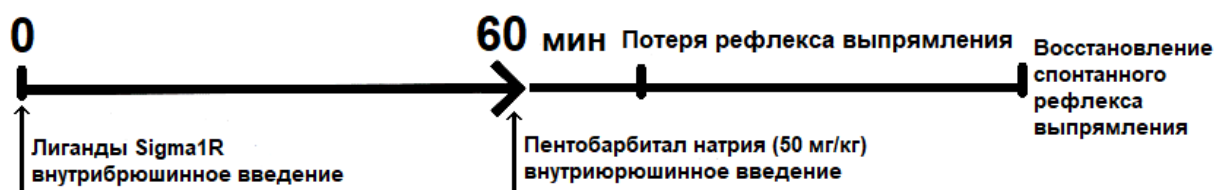


Рисунок 10 – Схема введения препаратов в модели пентобарбиталового сна у мышей

При исследовании влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависимые от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора при определении эффективной дозы ALLO в тестах ПХ и ПКЛ экспериментальные животные были распределены на следующие группы (n = 8 в каждой группе): с введением растворителя, группы с введением ALLO в дозах 2.5, 5, 10 мг/кг. Экспериментальные группы для отбора эффективной дозы ISO в тесте ПХ (n = 10 в каждой группе): с введением растворителя; с введением ISO в дозах 1, 5, 10, 20 мг/кг. Экспериментальные группы для отбора эффективной дозы ISO в тесте ПКЛ: с введением растворителя (n = 13); с введением ISO в дозах 10 мг/кг (n = 12), 20 мг/кг и 40 мг/кг (n = 11).

Экспериментальные группы в тесте ПХ для исследований с применением лигандов Sigma1R были распределены на следующие группы (Таблица 9).

Таблица 9 – Экспериментальные группы при изучении влияния лигандов Sigma1R на антидепрессивную активность ALLO и ISO

Группа	Предварительное введение 1 (за 60 мин)	Предварительное введение 2 (за 30 мин)	Количество животных, n
Изучение влияния лигандов Sigma1R на антидепрессивную активность ALLO			
1	0,9% NaCl	Растворитель ALLO	8
2	PRE-084 (5 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
3	PRE-084 (10 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
4	BD-1047 (5 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
5	BD-1047 (10 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
6	0,9% NaCl	ALLO (5 мг/кг)	8
7	PRE-084 (5 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
8	PRE-084 (10 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
9	BD-1047 (5 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
10	BD-1047 (10 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
Изучение влияния лигандов Sigma1R на антидепрессивную активность ISO			
1	0,9% NaCl	Растворитель ISO	10
2	PRE-084 (1 мг/кг)	Растворитель ISO	10
3	PRE-084 (2,5 мг/кг)	Растворитель ISO	10
4	BD-1047 (2,5 мг/кг)	Растворитель ISO	7
5	BD-1047 (5 мг/кг)	Растворитель ISO	10
6	0,9% NaCl	ISO (10 мг/кг)	10
7	PRE-084 (1 мг/кг)	ISO (10 мг/кг)	10
8	PRE-084 (2,5 мг/кг)	ISO (10 мг/кг)	10
9	BD-1047 (2,5 мг/кг)	ISO (10 мг/кг)	7
10	BD-1047 (5 мг/кг)	ISO (10 мг/кг)	8

Экспериментальные группы в тесте ПКЛ для исследований с применением лигандов Sigma1R были распределены на следующие группы (Таблица 10).

Таблица 10 – Экспериментальные группы при изучении влияния лигандов Sigma1R на анксиолитическую активность ALLO и ISO

Группа	Предварительное введение 1 (за 60 мин)	Предварительное введение 2 (за 30 мин)	Количество животных, n
Изучение влияния лигандов Sigma1R на анксиолитическую активность ALLO			
1	0,9% NaCl	Растворитель ALLO	8
2	PRE-084 (5 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
3	PRE-084 (10 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
4	BD-1047 (5 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
5	BD-1047 (10 мг/кг)	Растворитель ALLO	8
6	0,9% NaCl	ALLO (5 мг/кг)	8
7	PRE-084 (5 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
8	PRE-084 (10 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
9	BD-1047 (5 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
10	BD-1047 (10 мг/кг)	ALLO (5 мг/кг)	8
Изучение влияния лигандов Sigma1R на анксиолитическую активность ISO			
1	0,9% NaCl	Растворитель ISO	10
2	PRE-084 (5 мг/кг)	Растворитель ISO	9
3	PRE-084 (10 мг/кг)	Растворитель ISO	10
4	BD-1047 (5 мг/кг)	Растворитель ISO	10
5	BD-1047 (10 мг/кг)	Растворитель ISO	10
6	0,9% NaCl	ISO (20 мг/кг)	10
7	PRE-084 (5 мг/кг)	ISO (20 мг/кг)	9
8	PRE-084 (10 мг/кг)	ISO (20 мг/кг)	9
9	BD-1047 (5 мг/кг)	ISO (20 мг/кг)	10
10	BD-1047 (10 мг/кг)	ISO (20 мг/кг)	10

Исследуемые вещества вводили согласно схеме, представленной на рисунке 11.



Примечание – ALLO, ISO или их растворитель вводили подкожно за 30 мин до начала эксперимента из расчета 0,05 мл на 10 г массы животного [77]. Лиганды Sigma1R или их растворитель вводился за 60 минут до начала эксперимента.

Рисунок 11 – Схема введения препаратов в модели подвешивания за хвост и приподнятый крестообразный лабиринт

2.5 Статистическая обработка

Для расчета размеров выборки использовали анализ статистической мощности. Распределение экспериментальных данных анализировали с использованием тестов Д'Агостино – Пирсона и Шапиро – Уилка. Выбор статистического критерия определялся результатами проверки нормальности распределения и равенства дисперсий. Статистическую значимость в модели острых судорог определяли с использованием Т-теста или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим сравнением по Даннету или Шидаку. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. При оценке судорожного порога в модели пентилентетразолового киндлинга использовали критерий Манна – Уитни. Данные представлены в виде медианы и квартилей (Q25-75). Значения $p < 0,05$ принимали статистически значимыми. Статистическую значимость различий в экспериментах в модели пентобарбиталового сна определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим сравнением по Даннету. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. Для анализа дозовой зависимости эффектов использовали ANOVA «тест тренда». Статистическую значимость в тестах ПХ и ПКЛ межгрупповых различий рассчитывали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету, двухфакторного ANOVA

с множественным сравнением по Шидак, критерия Краскела Уоллиса с множественным сравнением по Данну. Данные представлены в виде среднего значения (m) и стандартного отклонения (SD) или медианы (md) и интерквартильного размаха (IQR). Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым. Статистический анализ и визуализацию проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 10.5.0 для Windows (GraphPad, Ла-Хойя, Калифорния, США).

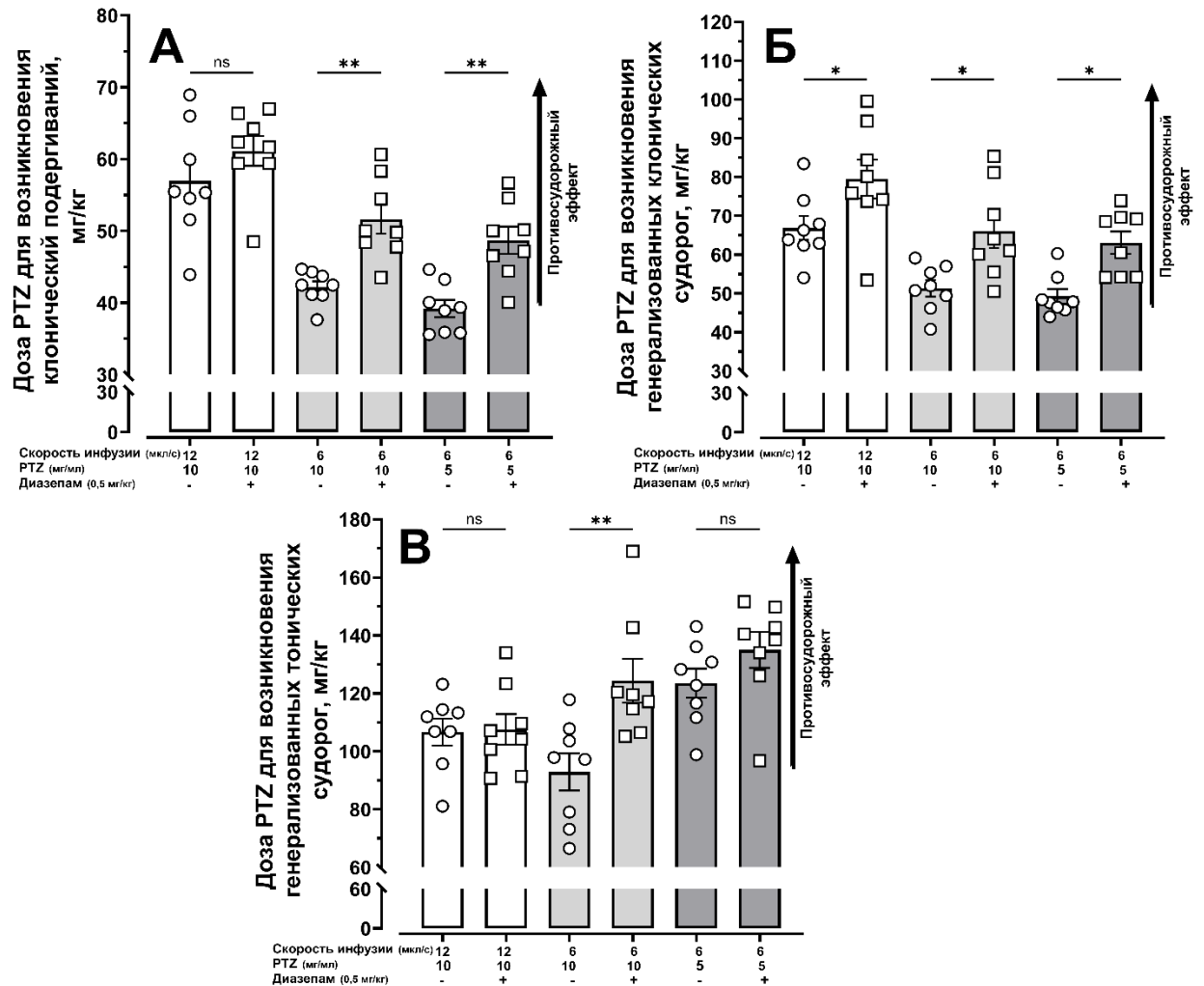
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оптимизация условий экспериментальных моделей, индуцированных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии

После внутривенного введения PTZ у животных развивались судорожные проявления в следующей последовательности: клонические подергивания, генерализованные клонические судороги и генерализованные тонические судороги. В эксперименте по подбору условий экспериментальной модели судорог определяли оптимальные условия скорости внутривенного введения и концентрации PTZ. В качестве контроля к каждой экспериментальной группе с определенными условиями использовалась группа животных, которым вводили диазепам в дозе 0,5 мг/кг при тех же условиях.

Показано, что при введении 1% PTZ (10 мг/мл) со скоростью 12 мкл/с статистически достоверное увеличение судорожного порога на фоне диазепама проявлялось только на этапе генерализованные клонические судорог ($p = 0,036$), и составляло 18,9% от соответствующего контроля (Рисунок 12). При клонических подергиваниях и генерализованных тонических судорогах противосудорожный эффект составлял 7,3 и 0,9% соответственно по отношению к контрольной группе. При введении 0,5% PTZ (5 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с статистически значимый противосудорожный эффект диазепама обнаруживался на этапе развития клонических подергиваниях ($p = 0,003$; 24,3% от контроля) и при генерализованных клонических судорогах ($p = 0,02$; 27,9% от контроля) (Рисунок 12), тогда как при генерализованных тонических судорогах данный эффект составлял 9,3% от контроля. При введении 1% PTZ (10 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с достоверное увеличение судорожного порога на фоне введения диазепама обнаруживалось во всех регистрируемых параметрах ($p = 0,0035$, 22,4% от контроля для клонических подергиваний; $p = 0,012$, 28,7%

от контроля для генерализованных клонических судорог; $p = 0,0015$, 34% от контроля для генерализованных тонических судорог) (Рисунок 12).

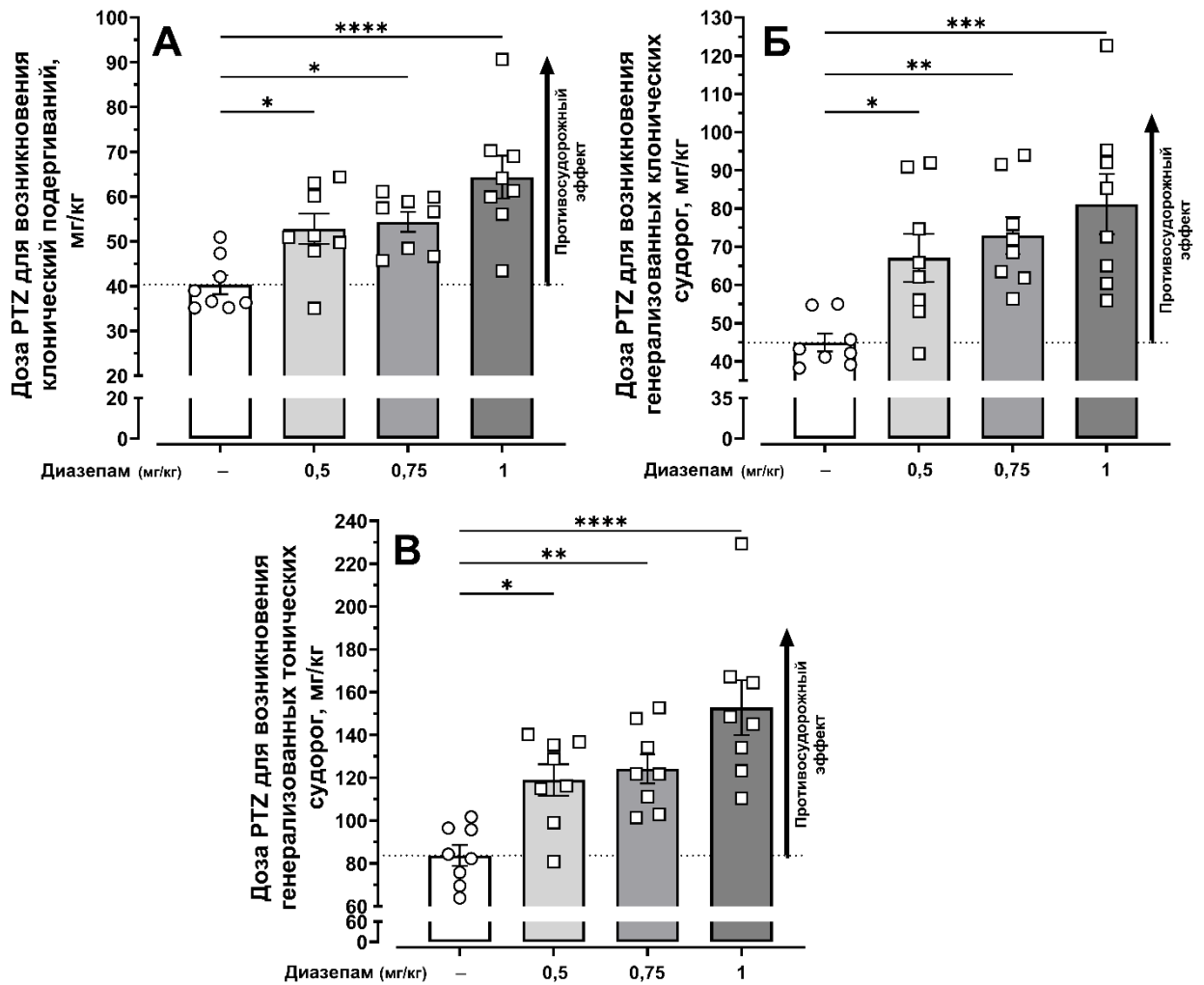


Примечание – А – клонические судороги; Б – генерализованные клонические судороги; В – генерализованные тонические судороги. Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог судорог и оказывает противосудорожное действие. Диазепам (0,5 мг/кг) или его растворитель вводили внутривенно за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M. Статистически значимые различия по сравнению с соответствующими условиями и диазепамом (0,5 мг/кг) согласно однофакторному ANOVA с пост-хок тестом Шидака: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns – not significant.

Рисунок 12 – Подбор условий экспериментальной модели судорог у мышей, вызванных внутривенным введением пентилентетразола

Таким образом, на основании полученных данных в качестве релевантных параметров для последующих экспериментов было выбрано введение 1% раствора PTZ (10 мг/мл) со скоростью 6 мкл/с в хвостовую вену.

В последующем определялась оптимальная доза диазепама в диапазоне 0,5 – 1 мг/кг, руководствуясь литературными данными [193, 217]. При предварительном введении диазепама во всем диапазоне исследуемых доз обнаруживалось статистически значимое увеличение судорожного порога на каждом этапе развития судорожных проявлений. Однако в дозе 0,5 мг/кг диазепам повышал судорожный порог на 30,9% для клонических подергиваний ($p = 0,034$), на 49,3% для генерализованных клонических судорог ($p = 0,028$), и на 42,2% для генерализованных тонических судорог ($p = 0,018$) (Рисунок 13) по сравнению с контрольными значениями. При увеличении дозы диазепама до 0,75 мг/кг противосудорожный эффект составлял 34,8% для клонических подергиваний ($p = 0,015$), 62,4% для генерализованных клонических судорог ($p = 0,005$), 48,3% для генерализованных тонических судорог ($p = 0,006$) от контрольных значений. Максимальные значения судорожного порога были зарегистрированы у животных, которым вводили диазепам в дозе 1 мг/кг – 59,5% для клонических подергиваний ($p < 0,0001$), 80,6% для генерализованных клонических судорог ($p = 0,0003$) и 82,5% для генерализованных тонических судорог ($p < 0,0001$) от контроля. Полученные результаты на данной модели подтверждают известное противосудорожное действие диазепама, проявляющееся дозозависимо на всех регистрируемых стадиях судорог ($p < 0,0001$ для клонических подергиваний и генерализованные тонические судороги, $p = 0,0001$ для генерализованных клонических судорог) (Рисунок 13).



Примечание – А – клонические судороги; Б – генерализованные клонические судороги; В – генерализованные тонические судороги. Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог судорог и оказывает противосудорожное действие. Диазепам (0,5; 0,75 и 1 мг/кг) или его растворитель вводили внутривенно за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M. Статистически значимые различия по сравнению с контролем согласно однофакторному ANOVA с пост-тестом Даннета: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 13 – Исследование противосудорожной активности диазепама на модели острых пентилентетразоловых судорог

Таким образом, на основе полученных результатов для исследований противосудорожной активности на данной модели была выбрана доза диазепама 1 мг/кг, демонстрирующая максимальный противосудорожный эффект.

С целью подбора условий эксперимента тестировались концентрации РС 0,2-0,4 % и скорости внутривенного введения экспериментальным животным 6-12 мкл/с. Как и в экспериментах с PTZ, оценивались те же типы судорог: клонические подергивания, генерализованные клонические судороги и генерализованные тонические судороги, и по мере введения препарата переходили из одной стадии в другую. В качестве параметра для выбора оптимальных условий введения была выбрана длительность развития эффектов и, соответственно, дозы РС, необходимые для развития регистрируемых эффектов.

Показано, что при одинаковой скорости введения (6 мкл/с) увеличение концентрации РС с 0,2% до 0,4% приводит к существенному повышению дозы, требуемой для возникновения судорог (для клонических подергиваний на 48,79%, для генерализованных клонических судорог на 36,38%). Более концентрированный раствор РС требует введения большей абсолютной дозы (в мг/кг) для достижения порогового уровня в мозге, что, вероятно, связано с кинетикой распределения и достижения эффективной концентрации в области рецепторов. Сравнение групп при генерализованных тонических судорогах с одинаковой концентрацией (0.2%), но разной скоростью (6 мкл/с и 12 мкл/с), показывает, что увеличение скорости введения также повышает пороговую дозу (на 7,37% относительно 6 мкл/с), но этот эффект менее выражен, чем от изменения концентрации. При одинаковой концентрации (0.2%) увеличение скорости инфузии с 6 мкл/с до 12 мкл/с приводит к резкому сокращению времени до развития всех стадий судорог, что соответствует общему увеличению концентрации конвульсанта в крови в два раза (клонические подергивания на 43,31%, генерализованные клонические судороги на 37,27%, генерализованные тонические судороги на 43,65%). При одинаковой скорости (6 мкл/с) увеличение концентрации с 0.2% до 0.4% не приводит к однозначному изменению времени наступления эффекта. Однако пределы регистрации всех наблюдаемых судорожных эффектов в течение минуты позволяют обеспечивать точность и непрерывность внутривенного

введения, а также возможность последующей фиксации как просудорожной, так и противосудорожной активности на данной модели (Таблица 11). Таким образом, в последующих экспериментах на модели внутривенного введения РС предполагаются параметры: концентрация РС 0,4%, скорость введения 6 мкл/с.

Предварительное введение диазепама в дозе 1 мг/кг в определенных экспериментальных условиях (0,4% РС со скоростью 6 мкл/с) при генерализованных клонических судорогах и генерализованных тонических судорогах оказывало значимый противосудорожный эффект (на 17,27% для генерализованных клонических судорог, $p = 0,016$; и на 27,05% для генерализованных тонических судорог, $p = 0,0002$, Таблица 11), и замедляло прогрессирование судорожного приступа (на 19,59% для генерализованных клонических судорог, $p = 0,0009$; и на 28,21% для генерализованных тонических судорог, $p < 0,0001$, Таблица 11), что указывало на релевантность условий данной модели и позволило ее использовать для дальнейших экспериментов.

Таблица 11 – Подбор условий для моделирования судорог при внутривенном введении пикротоксина

Группа	0,2% ПИС, 6 мкл/с	0,2% ПИС, 12 мкл/с	0,4% ПИС, 6 мкл/с	Диазепам 1 мг/кг 0,4% ПИС, 6 мкл/с
Доза ПИС, вызывающая КП, мг/кг Среднее значение ± SEM	15,72 ± 0,76	16,51 ± 0,94	23,39 ± 1,55	24,75 ± 0,62 p = 0,39
Доза ПИС, вызывающая ГКС, мг/кг Среднее значение ± SEM	23,31 ± 1,20	27,83 ± 1,42	31,79 ± 1,12	37,37 ± 1,62 *p = 0,016
Доза ПИС, вызывающая ГТС, мг/кг Среднее значение ± SEM	30,39 ± 2,69	32,63 ± 1,59	39,71 ± 1,04	50,45 ± 1,84 ***p = 0,0002
Время развития КП, с Среднее значение ± SEM	46,63 ± 2,01	25,50 ± 1,40	35,63 ± 1,99	38,80 ± 1,91 p = 0,27
Время развития ГКС, с Среднее значение ± SEM	68,75 ± 1,58	43,13 ± 2,45	48,50 ± 1,28	58,00 ± 1,83 ***p = 0,0009
Время развития ГТС, с Среднее значение ± SEM	89,40 ± 6,55	50,38 ± 2,30	60,75 ± 1,81	78,50 ± 2,71 ****p < 0,0001
Примечание – КП – клонические подергивания, ГКС – генерализованные клонические судороги, ГТС – генерализованные тонические судороги. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно T – тесту: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001.				

С целью подбора условий эксперимента тестировались концентрации ВИС 0,01-0,02% и скорости внутривенного введения экспериментальным животным 6-12 мкл/с. В качестве параметра для выбора оптимальных условий введения была выбрана длительность развития эффектов и, соответственно, дозы ВИС, необходимые для развития регистрируемых эффектов.

Показано, что при одинаковой скорости введения (6 мкл/с) увеличение концентрации ВИС с 0,01% до 0,02% приводит к существенному снижению дозы, необходимой для возникновения судорог (для клонических подергиваний на 30,44%, для генерализованных клонических судорог на 30,59%, Таблица 12). Более концентрированный раствор ВИС требует введения меньшей абсолютной дозы (в мг/кг) для достижения порогового

уровня в мозге, что указывает на более эффективное связывание с рецепторами при создании высокой локальной концентрации. Сравнение групп при генерализованных тонических судорогах с одинаковой концентрацией (0,01%), но разной скоростью (6 мкл/с и 12 мкл/с), показывает, что увеличение скорости введения также снижает пороговую дозу (на 19,75% относительно 6 мкл/с), причем этот эффект выражен значительно, чем на модели внутривенного введения PIS. При одинаковой концентрации (0,01%) увеличение скорости инфузии с 6 мкл/с до 12 мкл/с приводит к сокращению времени до развития всех стадий судорог (клонические подергивания на 51,39%, генерализованные клонические судороги на 56,08%, генерализованные тонические судороги на 59,82%, Таблица 12). Аналогичный эффект наблюдался при увеличении концентрации с 0,01% до 0,02% при одинаковой скорости 6 мкл/с (клонические подергивания на 64,86%, генерализованные клонические судороги на 64,59%, генерализованные тонические судороги на 63,03%). Сокращение времени развития судорог при использовании концентрации 0,02% BIS со скоростью 6 мкл/с делает данную комбинацию параметров оптимальной для создания релевантной и воспроизводимой экспериментальной модели. Таким образом, в последующих экспериментах на модели внутривенного введения BIS предполагаются параметры: концентрация BIS 0,02%, скорость введения 6 мкл/с.

Предварительное введение диазепама в дозе 1 мг/кг в определенных экспериментальных условиях (0,02% BIS со скоростью 6 мкл/с) при клонических подергиваниях, генерализованных клонических судорогах и генерализованных тонических судорогах оказывало значимый противосудорожный эффект (повышение пороговой дозы на 49,2% для клонических подергиваний, $p = 0,0028$; на 42,50% для генерализованных клонических судорог, $p = 0,012$; и на 37,78% для генерализованных тонических судорог, $p = 0,021$), и замедляло прогрессирование судорожного приступа (увеличение времени развития на 45,06% для клонических

подергиваний, $p = 0,0033$; на 38,26% для генерализованных клонических судорог, $p = 0,028$; и на 36,85% для генерализованных тонических судорог, $p = 0,034$, Таблица 12), что указывало на релевантность условий данной модели и позволило ее использовать для дальнейших экспериментов.

Таблица 12 – Подбор условий для моделирования судорог при внутривенном введении бикукуллина

Группа	0,01% ВИС, 6 мкл/с	0,01% ВИС, 12 мкл/с	0,02% ВИС, 6 мкл/с	Диазепам 1 мг/кг 0,02% ВИС, 6 мкл/с
Доза ВИС, вызывающая КП, мг/кг Среднее значение \pm SEM	1,391 \pm 0,056	1,352 \pm 0,061	0,9678 \pm 0,088	1,444 \pm 0,101 ** $p = 0,0028$
Доза ВИС, вызывающая ГКС, мг/кг Среднее значение \pm SEM	1,929 \pm 0,127	1,685 \pm 0,067	1,339 \pm 0,092	1,908 \pm 0,185 * $p = 0,012$
Доза ВИС, вызывающая ГТС, мг/кг Среднее значение \pm SEM	2,785 \pm 0,279	2,235 \pm 0,100	2,049 \pm 0,114	2,823 \pm 0,292 * $p = 0,021$
Время развития КП, с Среднее значение \pm SEM	84,11 \pm 3,72	40,88 \pm 1,85	29,56 \pm 2,92	42,88 \pm 2,37 ** $p = 0,0033$
Время развития ГКС, с Среднее значение \pm SEM	116,4 \pm 7,37	51,13 \pm 2,59	41,22 \pm 3,56	57,00 \pm 5,60 * $p = 0,028$
Время развития ГТС, с Среднее значение \pm SEM	168,3 \pm 16,69	67,63 \pm 3,06	62,22 \pm 3,02	85,13 \pm 9,87 * $p = 0,034$
Примечание – КП – клонические подергивания, ГКС – генерализованные клонические судороги, ГТС – генерализованные тонические судороги. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно Т – тесту: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.				

Результаты оптимизации условий экспериментальных моделей, индуцированных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии, опубликованы в статье с соавторами:

Шангин, С. В. Оптимизация условий экспериментальных моделей, опосредованных нарушением ГАМК-ергической нейротрансмиссии / **С. В.**

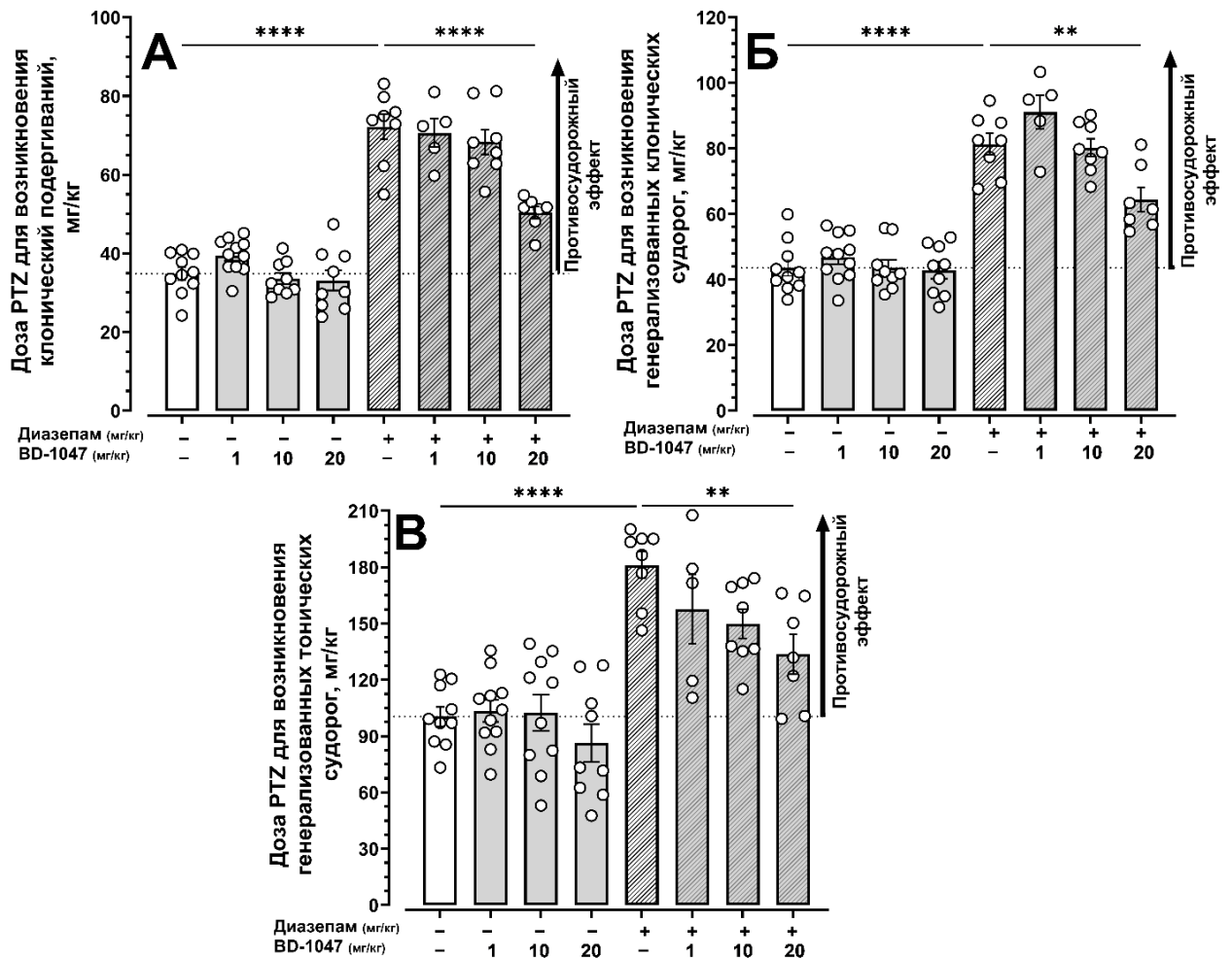
Шангин, В. Е. Мариевский, Ю. В. Вахитова // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 4. – С. 3-12.

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

Во время эксперимента регистрировали проявления клонических судорог, генерализованных клонических судорог, генерализованных тонических судорог. Внутривенное введение пентилентетразола контрольным группам мышей вызывало клонические подергивания и генерализованные клонические судороги при дозах от 35 до 52 мг/кг и генерализованные тонические судороги при дозах 68 и 100 мг/кг (Рисунок 14 и 15). Введение антагониста Sigma1R BD-1047 в дозах 1, 10 и 20 мг/кг статистически значимо не изменяло показатели порога судорожных реакций, вызванных PTZ. Таким образом, BD-1047 во всем диапазоне исследуемых доз не обладал собственным просудорожным или противосудорожным действием. Диазепам, введенный в дозе 1 мг/кг за 30 минут до PTZ, вызывал повышение порога возникновения клонических подергиваний в 2,9 раза ($p < 0,0001$), порога генерализованных клонических и тонических судорог — в 1,8 раза ($p < 0,0001$). Установлено, что предварительное введение BD-1047 в диапазоне доз 1–20 мг/кг сопровождалось снижением противосудорожного эффекта диазепама. Это выражалось в снижении дозы конвульсанта, необходимой для возникновения генерализованных клонических и тонических судорог, на 21% ($p = 0,006$) и 26% ($p = 0,007$) соответственно, а для клонических подергиваний — в 2 раза ($p < 0,0001$ для дозы 20 мг/кг) (Рисунок 14). Влияние BD-1047 на противосудорожную активность диазепама носило дозозависимый характер для всех типов судорог ($p < 0,0001$ для клонических подергиваний, $p = 0,0005$ для генерализованных клонических судорог и $p = 0,019$ для генерализованных тонических судорог),

причем наиболее выраженный эффект наблюдался при дозе антагониста 20 мг/кг.

Полученные данные свидетельствуют о том, что антагонист $\text{Sigma}1\text{R}$ BD-1047 в дозе 20 мг/кг снижает противосудорожный эффект диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом.

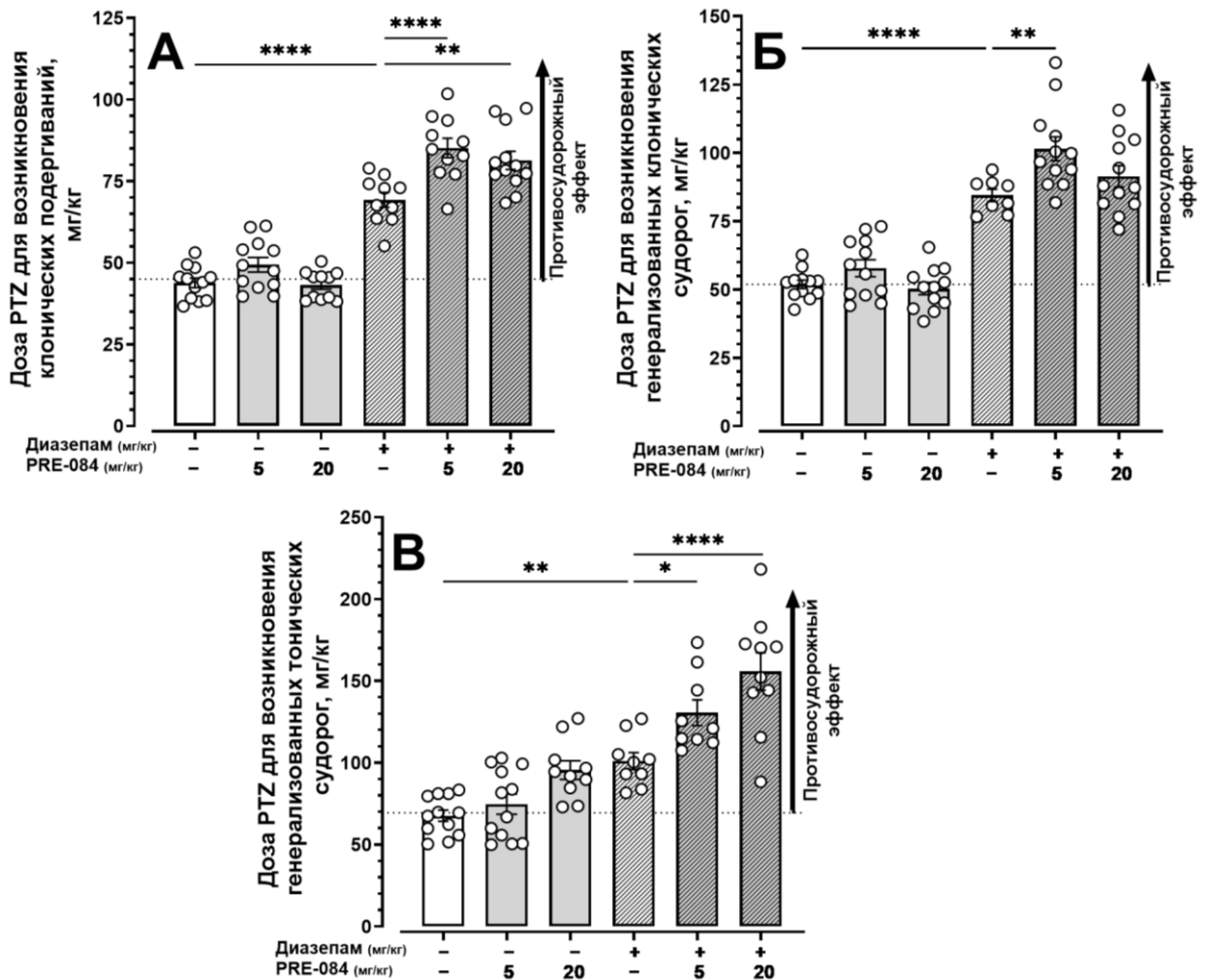


Примечание – (а) Клонические судороги; (б) генерализованные клонические судороги; (в) генерализованные тонические судороги. Пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог возникновения судорог и оказывает противосудорожное действие. BD-1047 (1, 10 и 20 мг/кг) вводили внутривенно за 90 минут до введения PTZ. Диазепам (1 мг/кг) вводили внутривенно за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно однофакторному ANOVA с post-hoc тестом Даннетта: ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 14 – Влияние селективного антагониста $\text{Sigma}1\text{R}$ BD-1047 на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом

Введение агониста Sigma1R PRE-084 в дозах 5 и 20 мг/кг статистически значимо не изменяло пороги судорожных реакций, вызванных PTZ, ни по одному из регистрируемых параметров, аналогично результатам, полученным для антагониста BD-1047. Таким образом, PRE-084 во всем диапазоне исследуемых доз не обладал собственным просудорожным или противосудорожным действием. Предварительное введение PRE-084 в дозе 5 мг/кг статистически значимо усиливало противосудорожный эффект диазепама (1 мг/кг), повышая порог всех регистрируемых судорожных реакций (Рисунок 15): для клонических подергиваний – на 23% ($p < 0,0001$), для генерализованных клонических судорог – на 20% ($p = 0,004$), для генерализованных тонических судорог – на 29% ($p = 0,03$). Повышение дозы PRE-084 до 20 мг/кг усиливало противосудорожное действие диазепама только в отношении порога возникновения клонических подергиваний (на 17,5%; $p = 0,0020$) и генерализованных тонических судорог (на 54%; $p < 0,0001$) (Рисунок 15), но не влияло на порог генерализованных клонических судорог (Рисунок 15). Дозозависимый характер влияния PRE-084 на противосудорожную активность диазепама был выявлен для порога генерализованных тонических судорог ($p = 0,0002$, Рисунок 15).

Полученные данные свидетельствуют о том, что агонист Sigma1R PRE-084 в дозе 5 мг/кг усиливает противосудорожный эффект диазепама в отношении клонических подергиваний и генерализованных клонических судорог, а в дозе 20 мг/кг — в отношении генерализованных тонических судорог, вызванных PTZ.



Примечание – (а) Клонические судороги; (б) генерализованные клонические судороги; (в) генерализованные тонические судороги. Пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных PTZ у контрольных животных. Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог возникновения судорог и оказывает противосудорожное действие. PRE-084 (5 и 20 мг/кг) вводили внутривенно за 90 минут до введения PTZ. Диазепам (1 мг/кг) вводили внутривенно за 30 минут до введения PTZ. Данные представлены в виде среднего значения \pm S.E.M. Статистически значимые различия по сравнению с диазепамом (1 мг/кг) согласно однофакторному ANOVA с post-hoc тестом Даннетта: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

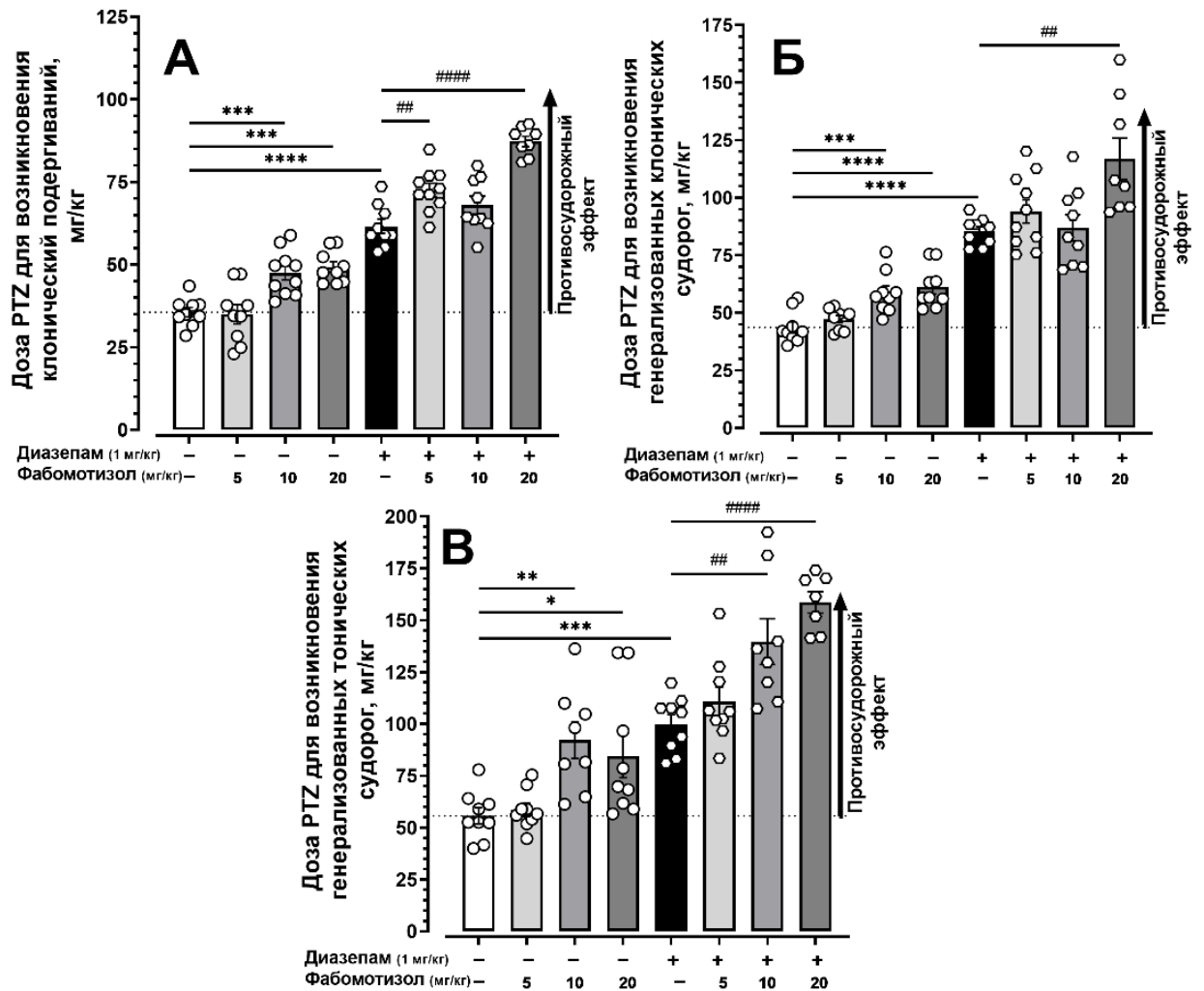
Рисунок 15 – Влияние селективного агониста $\text{Sigma}1\text{R}$ PRE-084 на противосудорожную активность диазепам в модели судорог, вызванных пентилентетразолом

При оценке эффектов агониста $\text{Sigma}1\text{R}$ фабомотизола на модели пентилентетразоловых (PTZ) судорог показано, что препарат в дозах 10 и 20 мг/кг, введенный за 90 мин до введения PTZ, повышал порог возникновения всех регистрируемых типов судорог (Рисунок 16). Введение фабомотизола в

дозе 10 мг/кг приводило к повышению судорожного порога: для клонических подергиваний на 33,5% ($p = 0,0009$), для генерализованных клонических судорог – на 34% ($p = 0,0004$), для генерализованных тонических судорог – на 65,5% ($p = 0,002$) (Рисунок 16). Увеличение дозы фабомотизола до 20 мг/кг также сопровождалось повышением порога судорог: для клонических подергиваний – на 38,4% ($p = 0,0002$), для генерализованных клонических судорог – на 40% ($p < 0,0001$), для генерализованных тонических судорог – на 51,45% ($p = 0,014$) (Рисунок 16). В совокупности полученные данные указывают на наличие у фабомотизола собственной противосудорожной активности, имеющей дозозависимый характер ($p < 0,0001$ для клонических подергиваний и генерализованных клонических судорог).

Влияние фабомотизола на противосудорожное действие диазепама также оценивали в модели острых пентилентетразоловых судорог (Рисунок 16). Фабомотизол в дозе 5 мг/кг усиливал противосудорожный эффект диазепама только в отношении клонических подергиваний ($p = 0,003$), а в дозе 10 мг/кг – только в отношении генерализованных тонических судорог ($p = 0,0015$). В дозе 20 мг/кг фабомотизол усиливал эффект диазепама в отношении всех стадий: клонических подергиваний (на 41,7%; $p < 0,0001$), генерализованных клонических судорог (на 36,9%; $p = 0,002$) и генерализованных тонических судорог (на 58,8%; $p < 0,0001$). Следует отметить, что усиление фабомотизолом противосудорожного эффекта диазепама в отношении генерализованных тонических судорог имело выраженный дозозависимый характер ($p < 0,0001$).

Полученные результаты соотносятся с данными о влиянии известного агониста Sigma1R PRE-084, который также усиливал противосудорожное действие диазепама в модели пентилентетразоловых судорог.



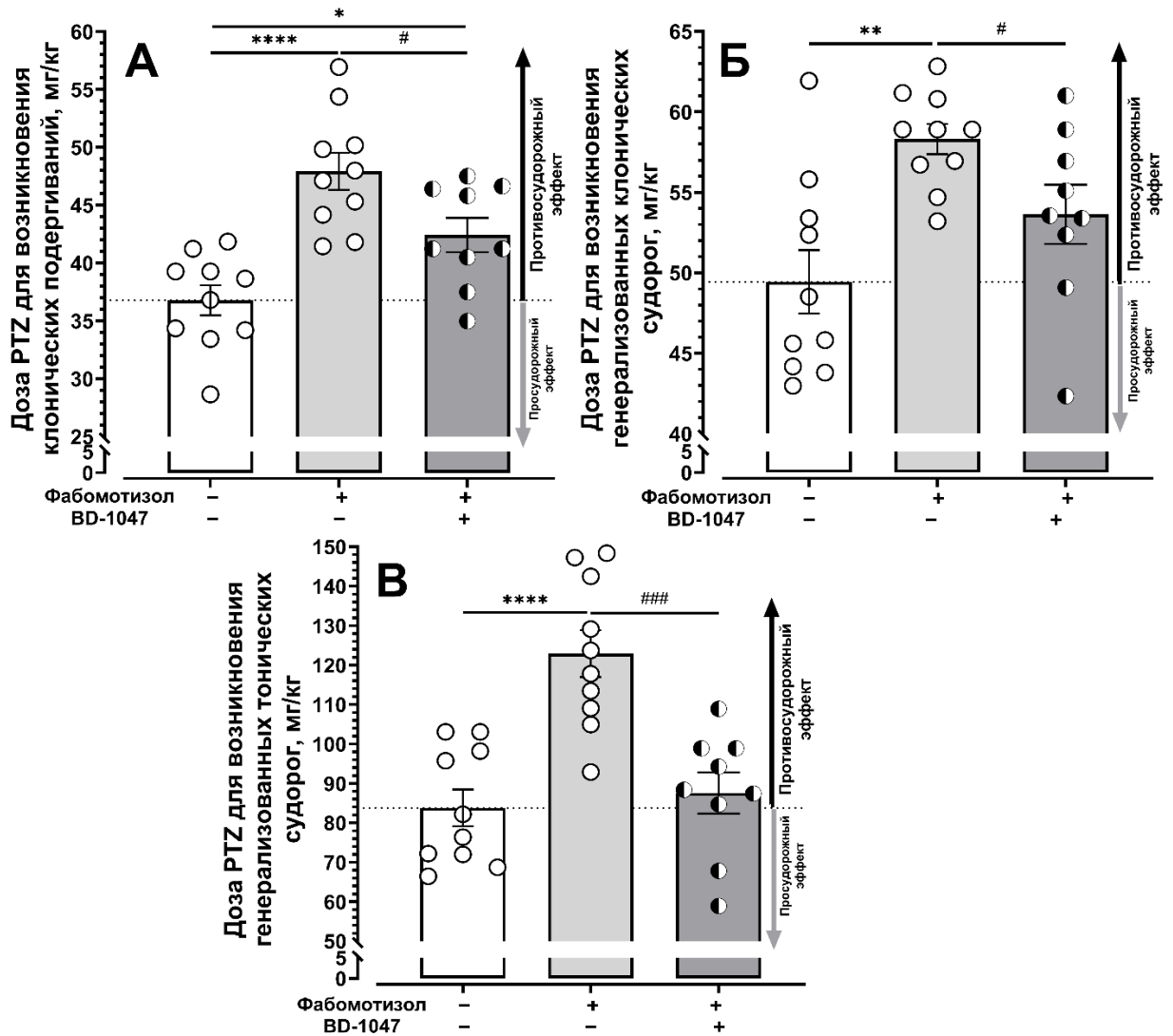
Примечание – Пунктирная линия – пороговая доза РТЗ. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Пунктирная линия обозначает порог судорог, вызванных РТЗ у контрольных животных. Стрелка вверх указывает на то, что соединение повышает порог возникновения судорог и оказывает противосудорожное действие. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий (ANOVA): ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$ в сравнении с контролем без введения препаратов; ## $p < 0,01$ #### $p < 0,0001$ в сравнении с группой «Диазепам 1 мг/кг».

Рисунок 16 – Влияние фабомотизола на противосудорожную активность диазепاما в модели острых пентилентетразоловых судорог

Полученные данные свидетельствуют о том, что фабомотизол обладает собственной противосудорожной активностью и способен значимо потенцировать эффект диазепاما, причем характер и степень синергизма определяются как дозой препарата, так и видом судорожной активности. Полученные результаты анализа типа взаимодействия агониста SignalR

фабомотизола с диазепамом могут быть перспективными для дальнейшего изучения комбинированной терапии с использованием агонистов Sigma1R и противосудорожных препаратов с различным механизмом действия для коррекции различных видов судорожных состояний.

Зависимость проявления противосудорожных свойств фабомотизола (20 мг/кг) от его взаимодействия с Sigma1R оценивали в эксперименте с антагонистом Sigma1R BD-1047 (Рисунок 17). Введение фабомотизола оказывало противосудорожное действие при клонических подергиваниях (30,3%, $p < 0,0001$), генерализованных клонических судорогах (17,9%, $p = 0,0012$) и генерализованных тонических судорогах (46,7%, $p < 0,0001$) относительно контроля, что подтверждает ранее полученные данные в независимом эксперименте. Предварительное введение BD-1047 (20 мг/кг) приводило к снижению противосудорожного действия фабомотизола, при проявлении клонических подергиваний на 11,5% ($p = 0,023$), при генерализованных клонических судорогах – на 8% ($p = 0,032$), при генерализованных тонических судорогах – на 28,8% ($p = 0,0004$) (Рисунок 17). Наиболее выраженное снижение противосудорожного эффекта фабомотизола при действии BD-1047 наблюдалось на стадии генерализованных тонических судорог (эффект фабомотизола снизился до 4,5% от контроля). В то же время на стадии клонических подергиваний группа, получавшая комбинацию препаратов, все еще достоверно отличалась от контроля (15,35%, $p = 0,023$) (Рисунок 17). Таким образом, полученные данные демонстрируют, что противосудорожное действие фабомотизола опосредуется агонистической активностью в отношении Sigma1R. Эти результаты согласуются с литературными данными о снижении судорожного порога как под влиянием антагонистов Sigma1R в моделях судорог *in vivo*, так и при сниженной экспрессии гена *Sigma1* у экспериментальных животных [354, 355].



Примечание – Пунктирная линия – пороговая доза PTZ после введения физиологического раствора. Фабомотизол и BD-1047 вводили в дозе 20 мг/кг. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий: * $p < 0,01$ ** $p < 0,001$ *** $p < 0,0001$ в сравнении с контрольным растворителем (ANOVA); # $p < 0,05$ ### $p < 0,001$ (Т-тест).

Рисунок 17 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабомотизола на модели пентилентетразоловых судорог у мышей

Несмотря на интенсивные исследования, точный механизм судорожного действия PTZ не раскрыт, предполагается, что конвульсант является антагонистом ГАМК_A рецептора, препятствует связыванию ГАМК с рецептором, снижает частоту открытия Cl⁻ каналов, снижает поступление Cl⁻ с последующей деполяризацией мембраны и повышением судорожной активности [143, 269].

В нашем исследовании выявлено снижение противосудорожного эффекта диазепама при действии антагонистов Sigma1R, тогда как агонист Sigma1R PRE-084 в дозах 5 и 20 мг/кг усиливал противосудорожный эффект бензодиазепамина. Установленное ослабление противосудорожного действия диазепама антагонистом Sigma1R BD-1047 согласуется с результатами работы E. Vavers и соавт. [355], в которой показано снижение порога судорог, вызванных пентилентетразолом (PTZ) [143] и бикикуллином [151], у мышей с инактивацией гена *Sigmar1*. Указанные эффекты PTZ не зависели от уровня экспрессии $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\beta 3$, $\gamma 2$ и δ субъединиц ГАМК_A рецепторов, который не изменялся у мышей-накаутов *Sigmar1*^{-/-} [355, 379]. В другой работе этой же исследовательской группы показано, что [354] антагонисты Sigma1R не влияли на проконвульсивную активность PTZ в дозах менее 20 мг/кг. Важно заметить, что самостоятельная проконвульсивная активность другого антагониста Sigma1R NE-100, выявленная в дозах выше 25 мг/кг, ослаблялась при инактивации гена *Sigmar1* [354-355]. Приведенные данные совместно с отсутствием аффинности BD-1047 и NE-100 к бензодиазепиновому сайту ГАМК_A рецепторов и конкуренции NE-100 за сайт связывания [³H]-мусцимола [355] указывают на способность антагонистов Sigma1R в относительно невысоких дозах препятствовать фармакологическим эффектам положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов за счет изменения функциональной активности Sigma1R.

Выявленные в нашей работе эффекты антагонистов и агонистов Sigma1R на фармакологические свойства положительного аллостерического модулятора бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецепторов диазепама согласуются с результатами исследования, в котором установлено снижение при действии PRE-084 судорог у мышей, индуцированных антагонистом Sigma1R NE-100 [354]. Эффекты лигандов и модуляторов Sigma1R в различных моделях судорог рассмотрены в обзоре [209]. В моделях судорог, индуцированных PTZ, и модели эпилептического статуса, индуцированного каиновой кислотой, соединения с агонистической активностью в отношении

Sigma1R (SKF-10.047, декстрометорфан и карбетапентан) и позитивные модуляторы Sigma1R (SKF83959, SOMCL-668 и E1R) проявляли противосудорожные свойства. Также как и при обнаруженном противосудорожном действии фабомотизола, эффекты позитивных модуляторов Sigma1R устранялись предварительным введением антагонистов BD-1047 или NE-100 [116, 169, 354]. Влияние лигандов Sigma1R на зависимые от ГАМК_A эффекты зафиксированы не только *in vivo*, но и *in vitro*. Так, NE-100 повышал опосредованный транспортером захват [³H]-ГАМК в синапсосомах, однако усиливал негативное влияние на этот процесс флумазенила, антагониста бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецепторов. Кроме того, NE-100 снижал опосредованный транспортером и выброс [³H]-ГАМК из нервных окончаний [262]. Большинство экспериментальных данных указывает на ослабление судорожной активности соединениями с агонистической активностью в отношении Sigma1R. Тем не менее, данные о влиянии лигандов Sigma1R со свойствами агонистов подтверждаются в других экспериментальных моделях. Предварительное однократное введение неселективного лиганда Sigma1R опипрамола, обладающего анксиолитикоподобными свойствами [232], также увеличивало латентный период развития клонических судорог, индуцированных PTZ [164]. Показано, что высокоаффинные лиганды Sigma1R со свойствами агонистов – флувоксамин и флуоксетин [147, 362] ослабляли ангедонию [249], но не антидепрессанты с меньшим сродством к Sigma1R [123]. Предварительное введение антагониста Sigma1R BD-1047 препятствовало этому эффекту флувоксамина [123]. В нашем исследовании продемонстрировано, что противосудорожная активность фабомотизола (20 мг/кг), также относящегося к агонистам Sigma1R, полностью устраняется антагонистом BD-1047, что свидетельствует о том, что выявленный эффект является зависимым от Sigma1R.

Основываясь на данных об участии различных субъединиц ГАМК_A рецепторов в опосредовании определенных фармакологических эффектов,

можно предположить, на какие подтипы ГАМК_A рецепторов направлены регуляторные влияния лигандов Sigma1R. Показано, что основными мишенями диазепама являются синаптические подтипы ГАМК_A, опосредующие седативный ($\alpha 1\beta\gamma 2$) [340], противосудорожный ($\alpha 1$ -содержащие ГАМК_A рецепторы) [112], снотворный ($\alpha 2$ -, $\alpha 3$ - или $\alpha 5$ -содержащие ГАМК_A рецепторы) [104] и анксиолитический ($\alpha 2\beta\gamma 2$, а также $\alpha 2/\alpha 3$ – содержащие ГАМК_A рецепторы) [85] эффекты.

Влияние лигандов Sigma1R на эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов может опосредоваться NMDA рецепторно-зависимым изменением активности нейрональной NO-синтазы (nNOS) [84, 102, 181, 207]. Не исключен вклад Sigma1R-зависимой регуляции потенциал-зависимых Ca²⁺ каналов L- и N-типа [336] в эффекты, опосредуемые ГАМК_A рецепторами [34, 110]. К настоящему времени в доступной литературе не обнаружено данных о непосредственном белок-белковом взаимодействии Sigma1R с ГАМК_A рецепторами. Тем не менее, это не исключает шаперонной активности Sigma1R в отношении субъединиц ГАМК_A, которая может зависеть от типа субъединиц и их посттрансляционной модификации и клеточной локализации. Sigma1R способен образовывать Ca²⁺-чувствительный комплекс с основным шапероном эндоплазматического ретикулума BiP (GRP78, HSPA5) [129, 255, 380] и сенсором ER стресса IRE1 α , запускающего сигнальный каскад развернутого белкового ответа [226, 281, 381]. Возможно, что описанные выше эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов, в частности диазепама, зависимы от диссоциации активированного Sigma1R от основного шаперона ER BiP, что способствует повышению активности обоих шаперонов [99, 118, 129, 255, 275], фолдинга белков [176, 325], а также регуляции сенсора ER стресса IRE1 α [226, 281]. Кроме того, *in vitro* показано взаимодействие шаперона BiP с субъединицами ГАМК_A рецепторов [58, 368, 371, 377]. Индуцированная экзогенными соединениями повышенная экспрессия BiP и усиление взаимодействий

между ViP и мутантными $\alpha 1$ субъединицами ГАМК_A рецепторов усиливают их фолдинг и клеточный трафик [79-80, 98]. Согласно [36] противосудорожное средство вальпроата [282. 373] способно усиливать экспрессию ViP без активации стресса эндоплазматического ретикулума. Зависимая от Sigma1R [226, 281] и ViP активация сигналинга IRE1 α также способствует увеличению уровня на клеточной поверхности мутантных $\alpha 1$ субъединиц ГАМК_A рецепторов [98].

Sigma1R также играет важную роль в поддержании гомеостаза Ca²⁺ в клетках [129, 225] и активации ViP-зависимого сигналинга при стрессе эндоплазматического ретикулума [178, 359]. В обзоре E. Sallard и соавторов [290] обсуждается возможность активации и ингибирования ГАМК_A рецепторов в условиях высвобождения Ca²⁺ из эндоплазматического ретикулума в низких и высоких концентрациях соответственно [70, 333]. Сходная регуляция ГАМК_A может осуществляться за счет способности лиганд-активированного Sigma1R повышать уровень внутриклеточного кальция, которая устранялась антагонистами шаперона [54, 128, 140]. Показано, что активация Ca²⁺-зависимой протеинкиназы C усиливает потенцирующее действие бензодиазепиновых или барбитуратных положительных аллостерических модуляторов на ГАМК_A рецепторе [187]. При этом, активация Sigma1R сопровождается не только транслокацией шаперона, но и протеинкиназы C в область мембраны [227], что может способствовать фосфорилированию ГАМК_A рецептора. Выявленное в исследовании влияние антагонистов Sigma1R на эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A согласуется со сниженной эффективностью регуляции протеинкиназой C у мышей *Sigma1*^{-/-} [78].

Не исключено, что вклад шаперона Sigma1R в регуляцию ГАМК_A-зависимых эффектов опосредуется влияниями Sigma1R на клеточные мембраны. Влияние Sigma1R на липидное окружение ГАМК_A рецепторов согласуется с установленной ролью Sigma1R в обмене холестерина в клеточных мембранах и реорганизации белков липидных рафтов [127, 129-

131, 332, 381]. Это свойство Sigma1R может влиять на функциональную активность ГАМК_A рецепторов, которая зависит от липидного окружения [315, 317]. Так, стимулирующее влияние ГАМК и диазепама на ток хлора через ГАМК_A зависит от целостности липидных рафтов [242].

Приведенные данные свидетельствуют о возможной зависимости эффектов аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов от регуляции липидного окружения ГАМК_A рецепторов, связанной с функциональной активностью Sigma1R. Таким образом, совокупность литературных данных и полученных результатов позволяет предположить многокомпонентный механизм, лежащий в основе выявленного в исследовании влияния лигандов Sigma1R на эффекты диазепама. Полученные результаты согласуются с моделью, согласно которой Sigma1R функционирует как регулятор ГАМК-ергической передачи. Этот регуляторный эффект, вероятно, осуществляется не через прямое связывание с ГАМК_A-рецептором, а опосредованно – через шаперон-зависимую модуляцию их сборки и трафика, взаимодействуя с комплексом BiP, контроль гомеостаза кальция и последующую активацию внутриклеточных сигнальных каскадов, а также через изменение липидного микроокружения рецептора в мембране. Обнаруженная способность фабомотизола - агониста Sigma1R проявлять противосудорожную активность в моделях с различным механизмом индукции судорог и зависимость этого эффекта от Sigma1R, подтверждает ключевую роль данного рецептора в модуляции возбудимости ЦНС и указывает на универсальность его механизма действия, выходящего за рамки взаимодействия с какой-либо одной конкретной мишенью.

Результаты исследования влияния лигандов Sigma1R на противосудорожную активность диазепама в модели судорог, вызванных пентилентетразолом, и оценка их собственного противосудорожного и просудорожного действия опубликованы в следующих работах:

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 [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 11. – P. 9580.

2. **Шангин, С. В.** Противосудорожные свойства фабомотизола при раздельном и совместном с диазепамом введении / **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова, С. А. Литвинова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 7. – С. 3-8.

3. **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.

4. **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.

5. **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.

6. **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.

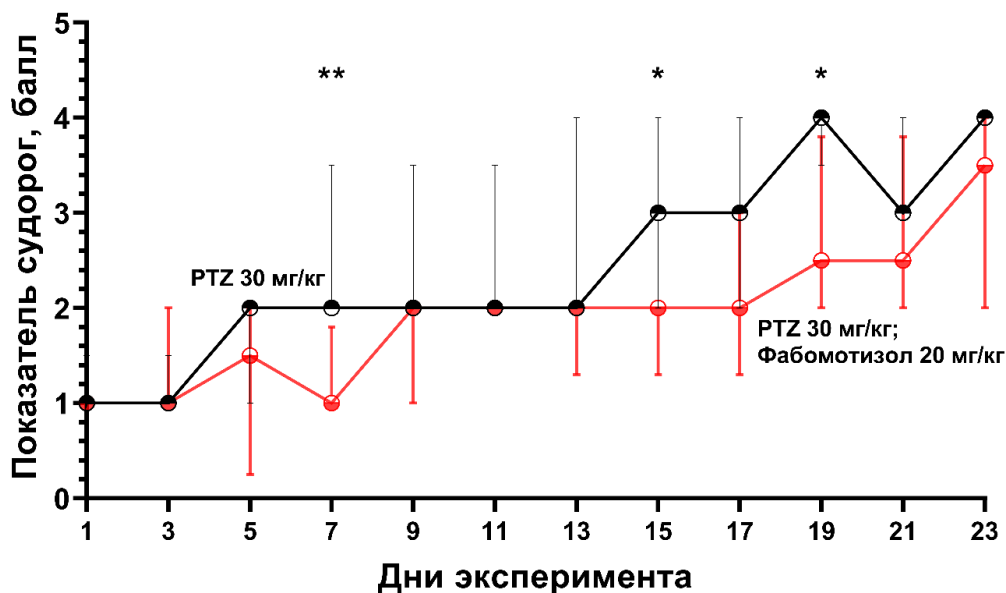
7. **Шангин, С. В.** Влияние лиганда Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабомотизола при судорогах, вызванных внутривенной инфузией пентилентетразола / **С. В. Шангин, Ю. В. Вахитова, С. Б. Середенин** // Сборник тезисов докладов девятой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические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

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

3.3 Влияние агониста Sigma1R фабомотизола на скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга

Фармакологический киндлинг моделировали на мышах путем повторных внутрибрюшинных введений (каждые 48 часов) субконвульсивных доз PTZ (30 мг/кг). Выраженность судорожных реакций у животных определяли по 4-балльной шкале: 0 – нормальное поведение, 1 балл – миоклонические подергивания мордочки, 2 балла – клонические подергивания тела и конечностей, 3 балла – непрерывный клонус всего тела, «хвост Штрауба», 4 балла – генерализованные клонические припадки с последующим падением. Показано, что фабомотизол в исследуемой дозе (20 мг/кг) ослаблял судорожные реакции животных в модели киндлинга, что проявлялось в повышении судорожного порога, достигая статистической значимости на седьмой ($p = 0,0067$), пятнадцатый ($p = 0,035$) и девятнадцатый день эксперимента (Рисунок 18). К десятому введению PTZ на фоне действия фабомотизола генерализованные судорожные реакции (4 балла) регистрировались лишь у 25% животных, в то время как в контрольной группе они наблюдались у 78% мышей. Выявленное в

эксперименте противосудорожное действие фабомотизола соответствует фармакологическому профилю соединений, активирующих Sigma1R [116, 354].



Примечание – Судорожный порог регистрировали в соответствии со шкалой Расина, модифицированной Ицхаком и Мартином. Статистическая значимость межгрупповых различий по критерию Манна – Уитни: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с контролем.

Рисунок 18 – Влияние фабомотизола на развитие киндлинга, вызванного PTZ

Таким образом, фабомотизол продемонстрировал выраженную противосудорожную активность в модели фармакологического киндлинга, вызванного повторными введениями пентилентетразола. Полученные данные позволяют предположить способность агониста Sigma1R снижать скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга, что требует подтверждения в дополнительных исследованиях с использованием антагонистов Sigma1R. Особенно показательным является существенное снижение доли животных с генерализованными судорожными реакциями. Выявленные эффекты коррелируют с фармакологическим профилем соединений, активирующих Sigma1R, что подтверждает перспективность дальнейшего изучения фабомотизола в качестве потенциального

противосудорожного средства с анксиолитическими, нейропротективными свойствами. Полученные результаты расширяют понимание механизмов противосудорожного действия фабомотизола и открывают новые перспективы для разработки комбинированной терапии отдельных форм эпилепсии с использованием агонистов Sigma1R.

Результаты исследования влияния агониста Sigma1R фабомотизола на скорость развития фармакологически индуцированного киндлинга опубликованы в следующих работах:

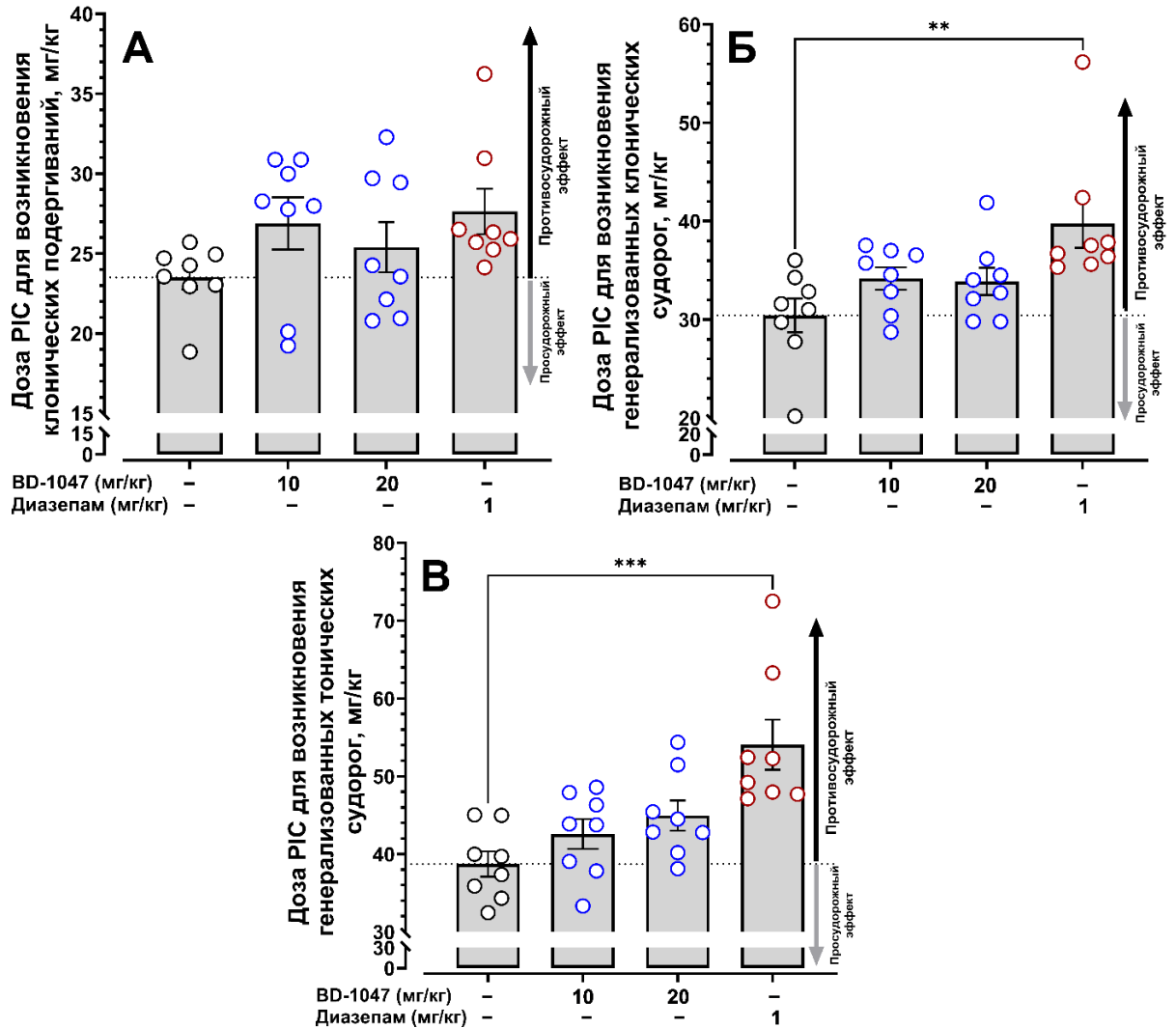
Шангин, С. В. Противосудорожные свойства фабомотизола при раздельном и совместном с диазепамом введении / **С. В. Шангин, Ю. В. Вахитова, С. А. Литвинова** [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 7. – С. 3-8.

3.4 Изучение влияния агонистов Sigma1R PRE-084 и фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина

Показано, что внутривенное введение PIC контрольной группе мышей вызывало клонические подергивания в диапазоне доз 18,9-25,7 мг/кг, генерализованные клонические судороги при дозах от 20,2 до 36 мг/кг и генерализованные тонические судороги при дозах от 32,5 до 45 мг/кг (Рисунок 19 и 20). Введение антагониста Sigma1R BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не оказывало статистически значимого влияния на порог судорожных реакций, вызванных PIC, изменяя порог возникновения судорог для возникновения клонических подергиваний до доз от 19,2 до 30,9 мг/кг для 10 мг/кг, и от 20,8 до 32,3 мг/кг для 20 мг/кг. При генерализованных клонических и генерализованных тонических судорогах пороги возникновения судорог составили соответственно от 28,7 до 37,6 мг/кг и от

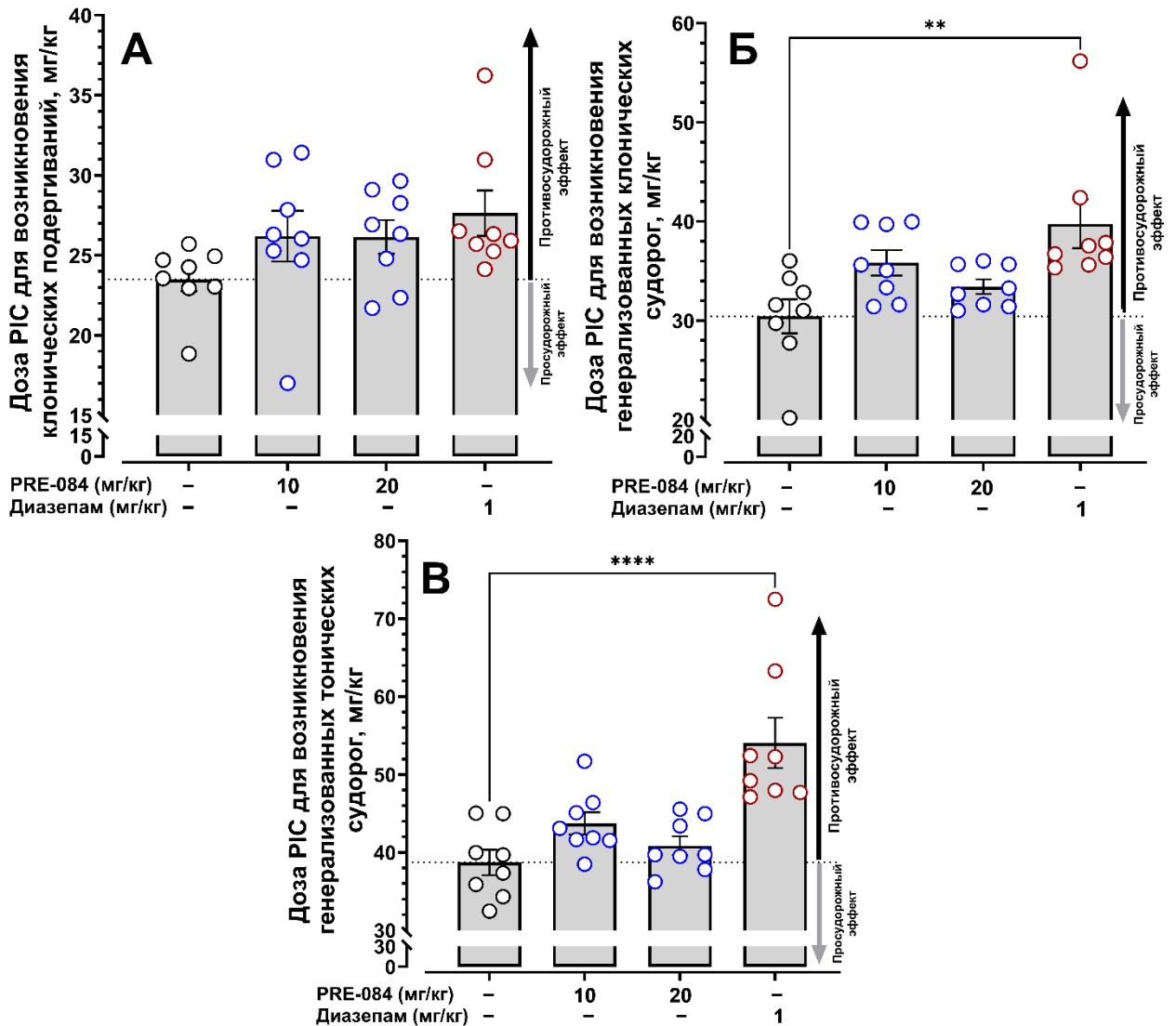
33,3 до 48,6 мг/кг для BD-1047 в дозе 10 мг/кг, в то время как для BD-1047 в дозе 20 мг/кг – от 29,8 до 41,9 мг/кг и от 38,1 до 54,4 мг/кг (Рисунок 19). Введение агониста Sigma1R PRE-084 в дозах 10 и 20 мг/кг также не оказывало статистически значимого влияния на порог судорожных реакций, вызванных PIC, изменяя порог возникновения судорог для возникновения клонических подергиваний до доз от 17 до 31,4 мг/кг для 10 мг/кг и от 21,7 до 29,6 мг/кг для 20 мг/кг. При генерализованных клонических и генерализованных тонических судорогах пороги возникновения судорог составили соответственно от 31,4 до 40 мг/кг и от 38,5 до 51,7 мг/кг для PRE-084 в дозе 10 мг/кг, в то время как для PRE-084 в дозе 20 мг/кг – от 31 до 36 мг/кг и от 36,3 до 45,6 мг/кг (Рисунок 20). Диазепам, введенный в дозе 1 мг/кг за 30 минут до PIC, достоверно повышал порог возникновения клонических подергиваний на 17,6%, генерализованных клонических судорог – на 30,7% ($p = 0,002$ с BD-1047, $p = 0,001$ с PRE-084) и генерализованных тонических судорог – на 39,6% ($p = 0,0001$ с BD-1047, $p < 0,0001$ с PRE-084) (Рисунок 19 и 20).

Полученные данные свидетельствуют о том, что лиганды Sigma1R PRE-084 и BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не обладают собственным противосудорожным и просудорожным влиянием на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина.



Примечание – Пунктирная линия – доза РІС, вызывающая судороги у контрольной группы. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-пост тестом Даннета: ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$.

Рисунок 19 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина



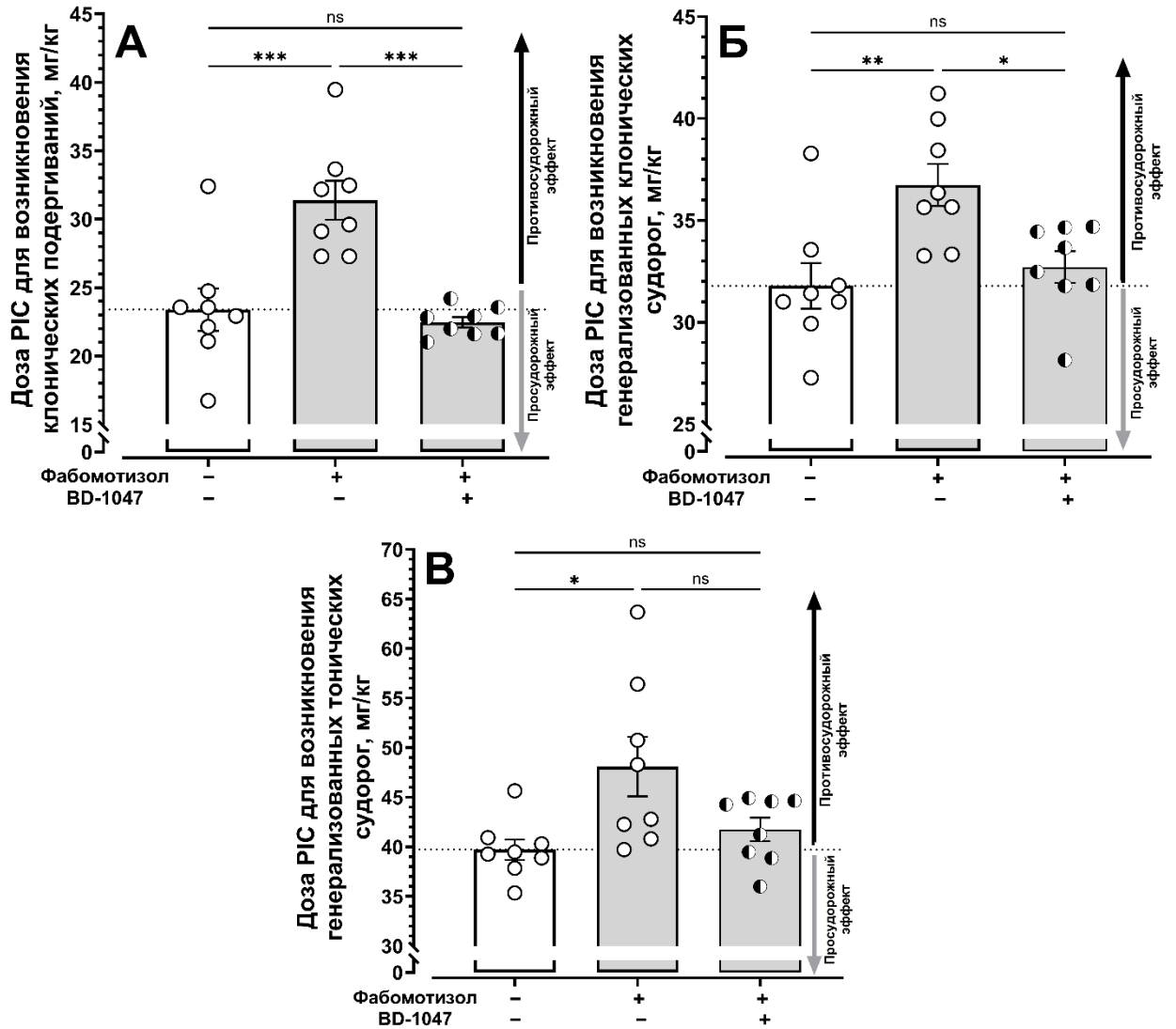
Примечание – Пунктирная линия – доза РИС, вызывающая судороги у контрольной группы. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-hoc тестом Даннета: ** $p < 0,01$ **** $p < 0,0001$.

Рисунок 20 – Влияние агониста Sigma1R PRE-084 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина

Изучение противосудорожной или просудорожной активности агониста Sigma1R фабомотизола, а также зависимости этих свойств от взаимодействия с Sigma1R выявляли при использовании дозы 20 мг/кг, которая в других моделях судорог продемонстрировала собственное противосудорожное действие. Предварительное введение фабомотизола

экспериментальным животным достоверно снижало скорость развития судорожных реакций в каждом из регистрируемых параметров. Показано, что противосудорожный эффект фабомотизола при клонических подергиваниях составлял 34,16% ($p = 0,0005$), при генерализованных клонических судорогах – 15,56% ($p = 0,006$), при генерализованных тонических судорогах – 21,1% ($p = 0,02$) (Рисунок 21). Противосудорожное действие фабомотизола статистически значимо снижалось при предварительном введении селективного антагониста Sigma1R BD-1047 при развитии клонических подергиваний (на 28,4%, от значений группы фабомотизол; $p = 0,0001$) и генерализованных клонических судорог (на 11%, от значений группы фабомотизол; $p = 0,027$) (Рисунок 21). Таким образом, полученные данные демонстрируют, что противосудорожный эффект фабомотизола в модели пикротоксиновых судорог опосредуется рецептором Sigma1R. Эти результаты согласуются с ранее полученными нами данными об эффектах фабомотизола на моделях судорог, индуцированных пентилентетразолом.

Полученные результаты позволяют предположить, что механизм противосудорожного действия фабомотизола принципиально отличается от механизма действия ГАМК-ергических препаратов. Продемонстрированная эффективность соединения в пикротоксиновой модели, где осуществляется прямая блокада ГАМК-зависимых хлорных каналов, свидетельствует о независимости его эффекта от классического ГАМК-ергического торможения. Статистически значимое устранение противосудорожной активности фабомотизола при применении селективного антагониста BD-1047 доказывает ключевую роль агонистической активности в отношении Sigma1R в реализации противосудорожного эффекта. Полученные результаты позволяют предположить участие иных нейромодуляторных систем в противосудорожной активности фабомотизола, что открывает перспективы для разработки новых стратегий фармакотерапии эпилепсий, резистентных к традиционным ГАМК-ергическим препаратам.



Примечание – Пунктирная линия – пороговая доза PMS после введения физиологического раствора. Фабомотизол и BD-1047 вводили в дозе 20 мг/кг. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-hoc тестом Шидака: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, ns – not significant.

Рисунок 21 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабомотизола на модели пикротоксиновых судорог у мышей

В литературных данных, посвященных исследованию молекулярных механизмов модуляции судорог и баланса между возбуждающими и тормозными путями через Sigma1R, ранее не рассматривались судорожные

агенты с разным механизмом действия на ГАМК_A рецептор. Известно, что пикротоксин является антагонистом ГАМК_A рецептора, который обычно используется для индукции судорог у животных. Важным аспектом взаимодействия Sigma1R с ГАМК_A-ергической системой является их влияние на другие нейромедиаторные системы. В частности, показано, что, активация Sigma1R, особенно в сочетании с рецепторами 5-HT1A, усиливает высвобождение дофамина в префронтальной доле у мышей, на фоне введения пикротоксина. Это позволяет предположить, что Sigma1R играет модулирующую роль в нейрохимических изменениях, вызванных антагонизмом ГАМК_A [249]. Флувоксамин и S-(+)-флуоксетин, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина с высоким сродством к Sigma1R, уменьшали развитие ангедонии, вызванной PIC [147, 362]. Действие флувоксамина блокировалось антагонистом 5-HT1A или Sigma1R, а совместное применение агониста Sigma1R (+)-SKF-10047 и агониста 5-HT1A рецепторов оземозотана имитировало действие флувоксамина. Напротив, дезипрамин, дулоксетин и пароксетин, которые слабо связываются с Sigma1R рецепторами, не влияли на вызванную PIC ангедонию [123]. В настоящем исследовании селективные агонист и антагонист Sigma1R PRE-084 и BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не оказывали влияния на пороги судорог, вызванные внутривенным введением PIC. Однако, в литературе известно о влиянии различных агонистов Sigma1R на порог возникновения судорог, вызванных PIC. Флуоксетин [196], PNU-151774E [89] и некоторые другие соединения, обладающие агонистической активностью к Sigma1R в доклинических исследованиях демонстрируют противосудорожный эффект на моделях судорог, вызванных PIC. Следует отметить, что флуоксетин и PNU-151774E обладают сложным механизмом действия и не являются селективными агонистами Sigma1R, что может объяснять различия в их эффектах по сравнению с PRE-084. В настоящем исследовании фабомотизол, также являющийся агонистом Sigma1R, в дозе 20 мг/кг проявлял собственный противосудорожный эффект, который полностью устранялся

предварительным введением антагониста Sigma1R BD-1047. Отсутствие влияния антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожные эффекты фабомотизола при генерализованных тонических судорогах, вызванных PIC, может быть обосновано отличными от Sigma1R механизмами, связанными с мультитаргетностью фармакологической активности препарата [1]. Таким образом, можно заключить, что фабомотизол обладает противосудорожным действием, которое зависит от взаимодействия с Sigma1R. Однако механизм реализации этого эффекта остается нераскрытым и требует дополнительных исследований.

Результаты изучения влияния агонистов Sigma1R PRE-084 и фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением блокатора хлорного канала ГАМК_A пикротоксина, опубликованы в средующих работах:

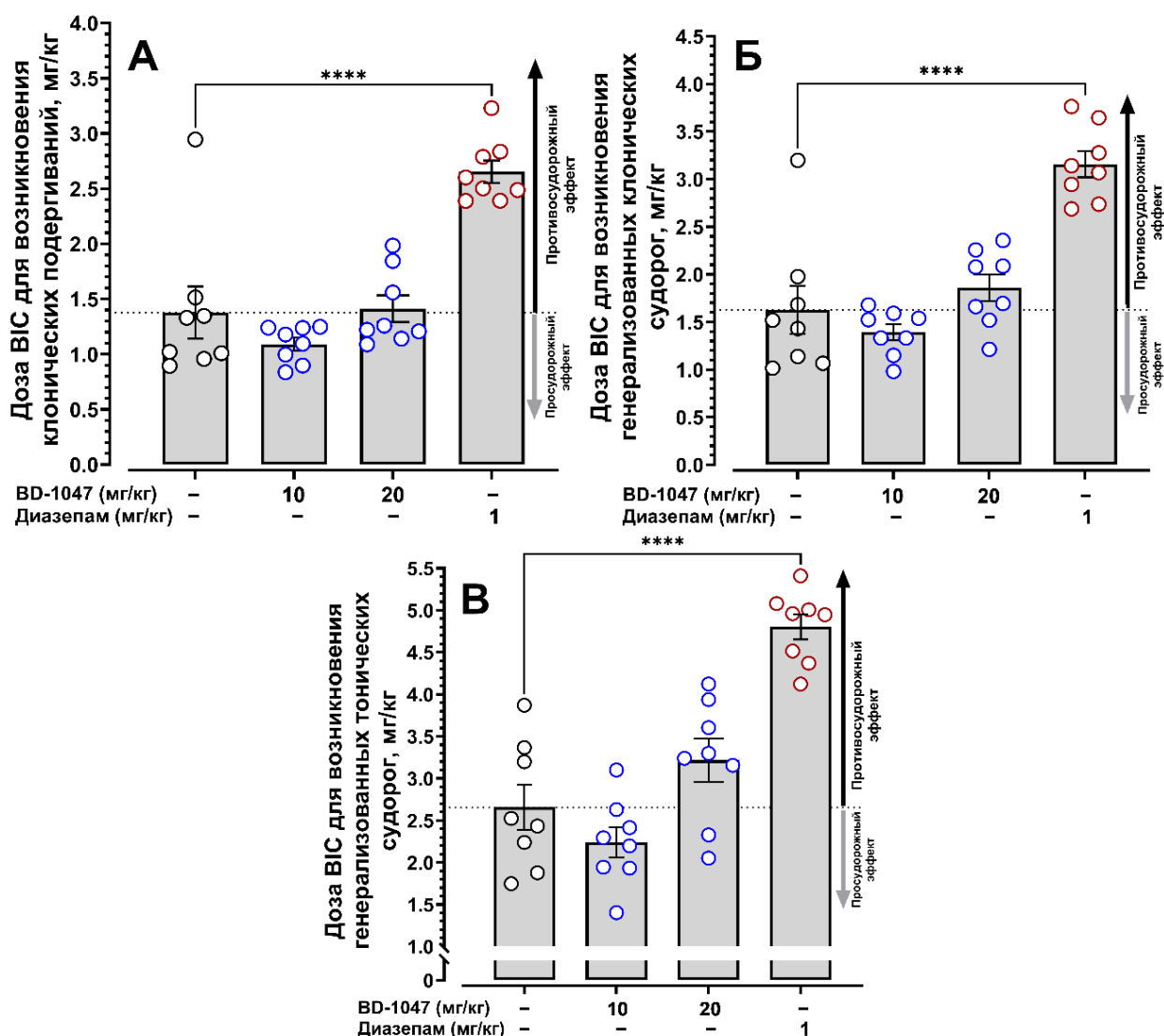
1. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R на судороги, вызванные блокадой ортостерического участка и хлорного канала ГАМК_A рецептора / **С. В. Шангин, Ю. В. Вахитова, М.В. Воронин, С. Б. Середенин** // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 4. – С. 112-117.

2. **Шангин, С. В.** Влияние лиганда Sigma1R фабомотизола на порог возникновения судорог, вызванных бикукуллином 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: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» – 2025. – С. 649-650.

3.5 Изучение влияния агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикикуллина

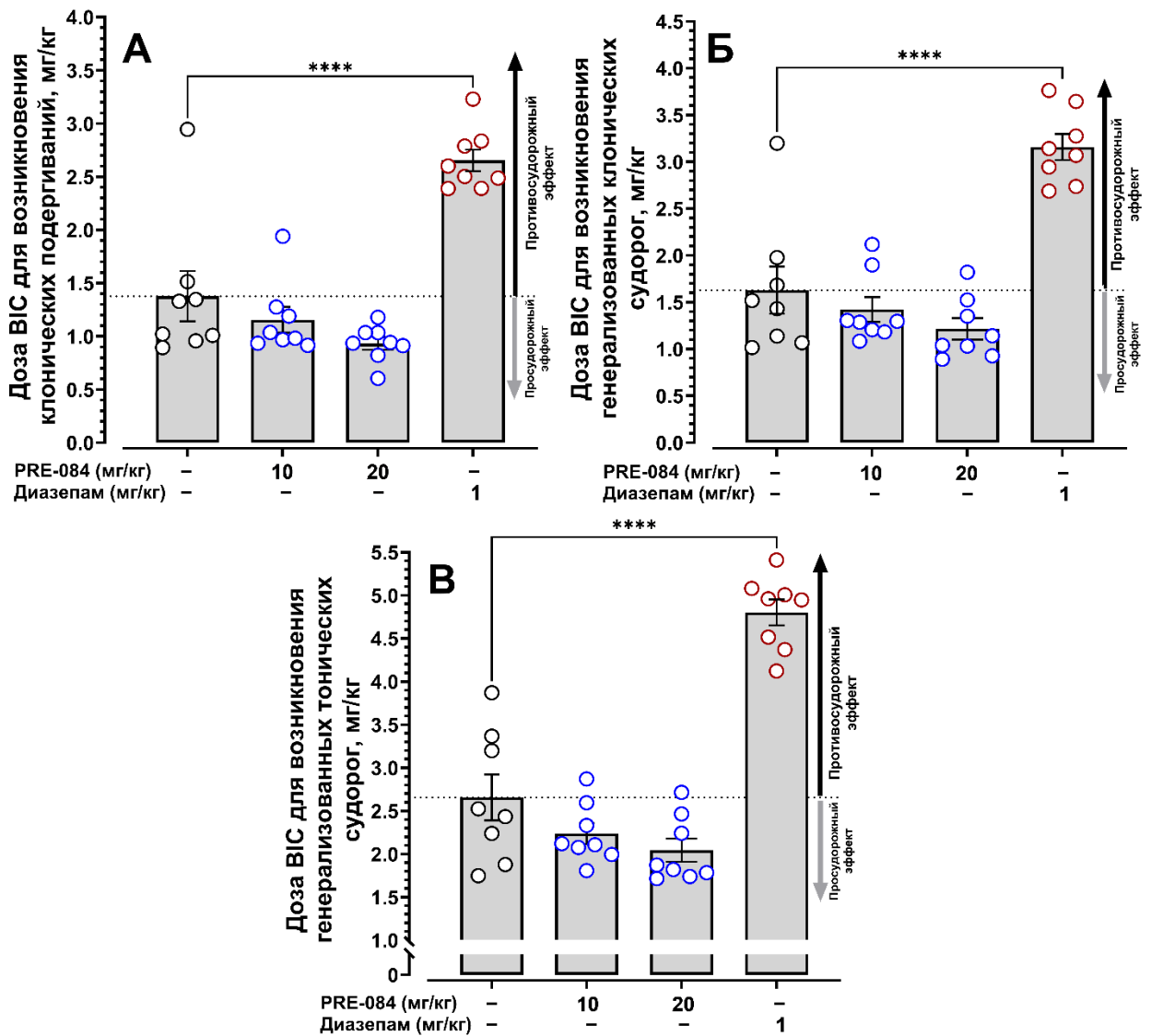
Установлено, что внутривенное введение ВИС контрольной группе мышей вызывало клонические подергивания в диапазоне доз 0,9-2,95 мг/кг, генерализованные клонические судороги при дозах от 1,02 до 3,2 мг/кг и генерализованные тонические судороги при дозах от 1,75 до 3,87 мг/кг (Рисунок 22 и 23). Введение антагониста Sigma1R BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не оказывало статистически значимого влияния на порог судорожных реакций, вызванных ВИС изменяя порог возникновения судорог для клонических подергиваний до доз от 0,84 до 1,25 мг/кг для 10 мг/кг и от 1,09 до 1,98 мг/кг для 20 мг/кг. При генерализованных клонических и генерализованных тонических судорогах пороги возникновения судорог составили соответственно от 0,98 до 1,68 мг/кг и от 1,4 до 3,1 мг/кг для BD-1047 в дозе 10 мг/кг, в то время как для BD-1047 в дозе 20 мг/кг – от 1,21 до 2,36 мг/кг и от 2,05 до 4,12 мг/кг (Рисунок 22). Аналогичным образом, введение агониста Sigma1R PRE-084 (10 и 20 мг/кг) не вызывало статистически значимых изменений порогов судорожных реакций, индуцированных ВИС, изменяя порог возникновения судорог для возникновения клонических подергиваний до доз от 0,92 до 1,94 мг/кг для 10 мг/кг и от 0,61 до 1,18 мг/кг для 20 мг/кг. При генерализованных клонических и генерализованных тонических судорогах пороги возникновения судорог составили соответственно от 1,09 до 2,12 мг/кг и от 1,81 до 2,87 мг/кг для PRE-084 в дозе 10 мг/кг, в то время как для PRE-084 в дозе 20 мг/кг – от 0,89 до 1,82 мг/кг и от 1,71 до 2,71 мг/кг (Рисунок 23). Диазепам, введенный в дозе 1 мг/кг за 30 минут до ВИС, вызывал повышение порога возникновения клонических подергиваний на 92,7%, порог генерализованных клонических – на 93,9% и тонических судорог – на 80,7%

($p < 0,0001$ для каждого регистрируемого параметра судорог) (Рисунок 22 и 23).



Примечание – Пунктирная линия – доза ВИС, вызывающая судороги у контрольной группы. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-hoc тестом Даннета: **** $p < 0,0001$.

Рисунок 22 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикукуллина



Примечание – Пунктирная линия – доза ВИС, вызывающая судороги у контрольной группы. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-hoc тестом Даннета: **** $p < 0,0001$.

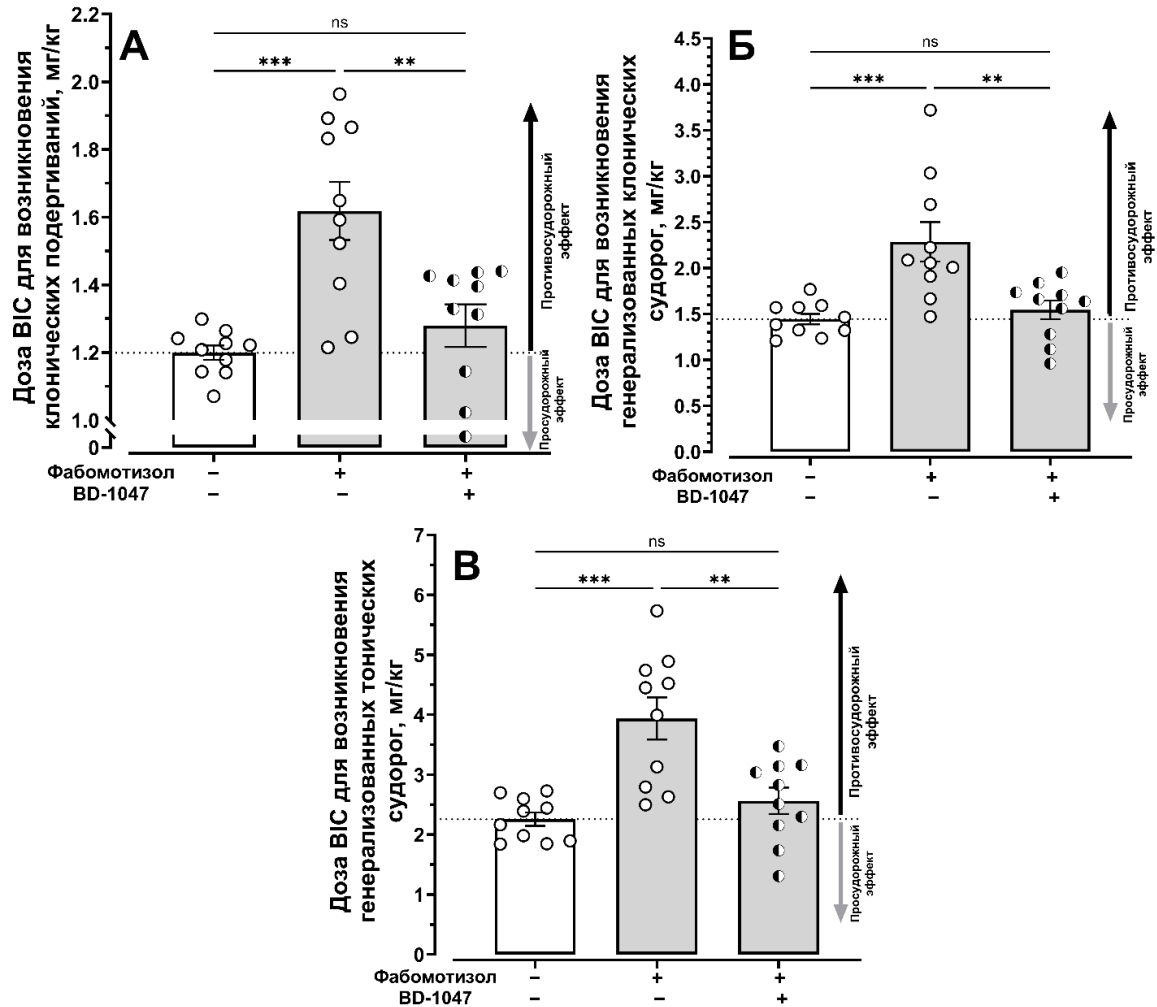
Рисунок 23 – Влияние агониста Sigma1R PRE-084 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикикуллина

Полученные данные свидетельствуют о том, что лиганды Sigma1R PRE-084 и BD-1047 в дозах 10 и 20 мг/кг не обладают собственным противосудорожным и просудорожным влиянием на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных

внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикикуллина.

Изучение противосудорожной или просудорожной активности агониста Sigma1R фабомотизола, а также зависимости этих свойств от взаимодействия с Sigma1R выявляли при использовании дозы 20 мг/кг, которая в других вышеописанных моделях судорог продемонстрировала собственное противосудорожное действие. Предварительное введение фабомотизола экспериментальным животным повышало судорожный порог развития судорожных реакций в каждом из регистрируемых параметров. Показано, что противосудорожный эффект фабомотизола при клонических подергиваниях составлял 34,16% ($p = 0,0002$), для генерализованных клонических судорог – 58,3% ($p = 0,0007$), для генерализованных тонических судорог – 74,3% ($p = 0,0002$) (Рисунок 24). Противосудорожное действие фабомотизола статистически значимо ослаблялось предварительным введением селективного антагониста Sigma1R BD-1047 при развитии клонических подергиваний (на 25,8%, от группы фабомотизол; $p = 0,002$), генерализованных клонических судорог (на 47,7%, от группы фабомотизол; $p = 0,003$) и генерализованных тонических судорог (на 53,3%, от группы фабомотизол; $p = 0,002$) (Рисунок 24). Таким образом, полученные данные демонстрируют, что противосудорожный эффект фабомотизола на модели бикикуллиновых судорог опосредуется агонистической активностью к Sigma1R. Эти результаты согласуются с полученными ранее данными на других моделях судорог, вызванных введением пентилентетразола и пикротоксина. Поскольку бикикуллин является конкурентным антагонистом ГАМК_A-рецепторов и блокирует ортостерический сайт связывания ГАМК, его проконвульсантное действие реализуется через прямое и селективное угнетение быстрого синаптического торможения. Продемонстрированная эффективность фабомотизола в условиях подавления ГАМК-ергической передачи указывает на не-ГАМК-ергический механизм противосудорожного действия. Статистически значимое практически полное устранение эффекта

фабототизола при действии антагониста Sigma1R BD-1047 подтверждает ключевую роль шаперона в реализации противосудорожного действия в модели бикикуллиновых судорог.



Примечание – Пунктирная линия – пороговая доза ВИС после введения физиологического раствора. Фабототизол и BD-1047 вводили в дозе 20 мг/кг. А. Клонические подергивания. Б. Генерализованные клонические судороги. В. Генерализованные тонические судороги. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с пост-hoc тестом Шидака: ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, ns – not significant.

Рисунок 24 – Влияние антагониста Sigma1R BD-1047 на противосудорожную активность фабототизола на модели бикикуллиновых судорог у мышей

Полученные данные свидетельствуют о том, что активация Sigma1R способна компенсировать нарушения ГАМК-ергической передачи, возможно, посредством активации альтернативных нейромодуляторных

систем, что может стать основой для разработки терапевтических стратегий при формах эпилепсии, резистентных к традиционным ГАМК-ергическим препаратам.

Таким образом, противосудорожный эффект фабомотизола как на модели бикукуллиновых, так и пикротоксиновых судорог опосредуется агонистической активностью в отношении Sigma1R. Несмотря на различия в механизмах взаимодействия с ГАМК_A рецепторами, действие конвульсантов [10] связано с ингибированием/блокадой входа ионов Cl⁻, повышением экстраклеточного уровня K⁺, деполяризацией мембраны с последующим входом в клетку Na⁺ через потенциал-управляемые натриевые каналы и Ca²⁺ – посредством потенциал-управляемых кальциевых каналов и через NMDA рецепторы, что сопровождается повышением уровня внутриклеточного Ca²⁺, продолжительным поддержанием высокой концентрации иона внутри клетки и экзоцитозом нейромедиаторов [341]. В совокупности, вызванные деполяризацией изменения электрохимических градиентов K⁺, Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, дисфункции ионных каналов и мембранных транспортеров, избыточный выброс глутамата и других возбуждающих аминокислот, приводит к дисбалансу возбуждающих и тормозных влияний, и формированию и поддержанию судорожной активности [268]. Введение BIC приводит к снижению тормозной активности в мозге, что вызывает гипервозбуждение нейронов и судорожную активность [74]. В экспериментах с использованием BIC показано, что антагонист Sigma1R NE-100 усиливает судорожную активность, а положительный аллостерический модулятор Sigma1R E1R проявляет противосудорожный эффект. Эффект E1R блокируется NE-100, что подтверждает участие Sigma1R в модуляции судорог, индуцированных BIC [354]. Также известно, что у мышей-нокауты по гену *Sigmar1*^{-/-} была обнаружена повышенная чувствительность к судорогам, вызванным внутривенным введением BIC [355]. Таким образом, литературные данные указывают на то, что лиганды Sigma1R способны модулировать судороги, вызванные антагонистом ГАМК_A рецепторов BIC. В

проведенных ранее экспериментах по изучению влияния агониста Sigma1R PRE-084 на пороги судорог, вызванных ВИС, не было обнаружено просудорожного и противосудорожного влияния, однако исследование проводилось только в дозе 50 мг/кг [354]. При исследовании влияния PRE-084 в дозах 10 и 20 мг/кг также не было обнаружено статистически значимого влияния на пороги судорог, вызванных ВИС. Кроме того, ранее не было описано влияние антагонистов Sigma1R на просудорожную активность ВИС. Было показано, что BD-1047, так же, как и агонист Sigma1R PRE-084, в дозах 10 и 20 мг/кг не оказывает статистически значимого влияния на пороги судорог, вызванные внутривенным введением ВИС. Отсутствие влияния PRE-084 и BD-1047 на ВИС-индуцированные судороги согласуется с их эффектами на модели судорог, вызванных РС и PTZ, где они также не проявляли активности. При изучении другого агониста Sigma1R, фабомотизола, было показано, что в дозе 20 мг/кг он проявлял собственный противосудорожный эффект, который полностью устранялся предварительным введением антагониста Sigma1R BD-1047. Таким образом, можно заключить, что фабомотизол обладает противосудорожным действием, которое зависит от взаимодействия с Sigma1R. Однако механизм реализации этого эффекта остается нераскрытым и требует дополнительных исследований.

Результаты изучения влияния агонистов Sigma1R – PRE-084, фабомотизола, и антагониста Sigma1R BD-1047 на пороги судорожных реакций в модели экспериментальных судорог у мышей, вызванных внутривенным введением антагониста ортостерического сайта ГАМК_A бикукуллина, опубликованы в следующих работах:

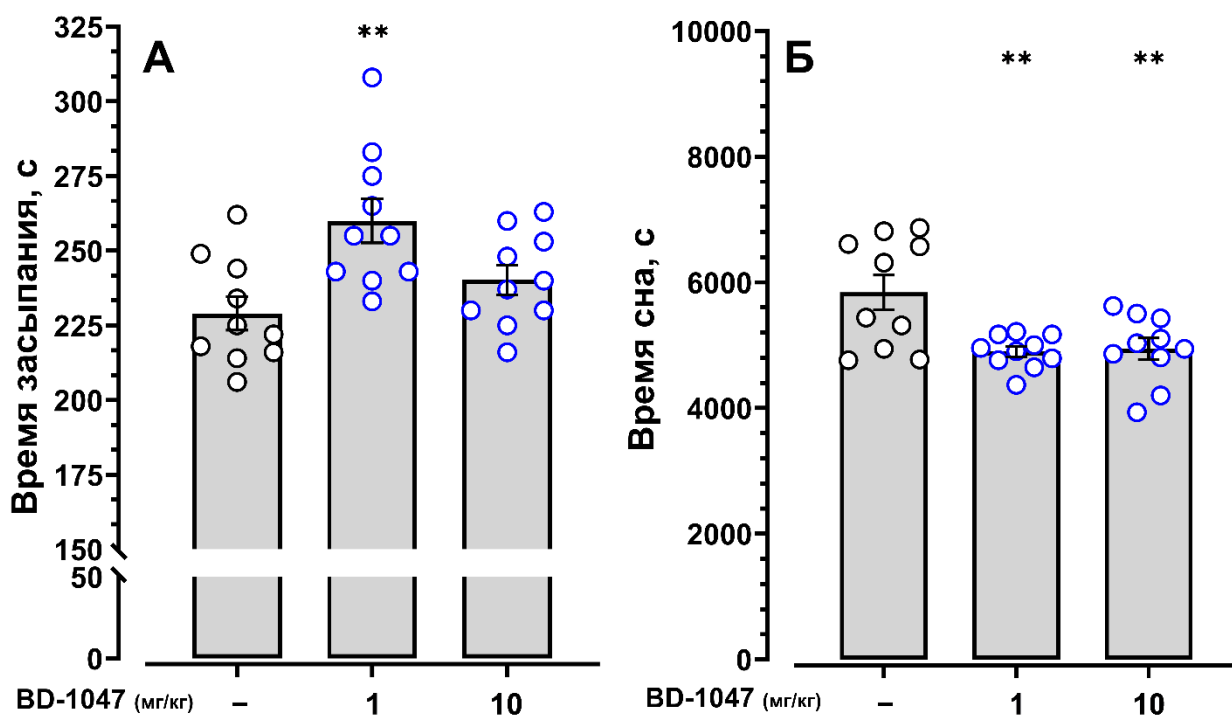
1. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R на судороги, вызванные блокадой ортостерического участка и хлорного канала ГАМК_A рецептора / **С. В. Шангин, Ю. В. Вахитова, М.В. Воронин, С. Б. Середенин** // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 4. – С. 112-117.

2. **Шангин, С. В.** Влияние лиганда Sigma1R фабомотизола на порог возникновения судорог, вызванных бикукуллином 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: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» – 2025. – С. 649-650.

3.6 Исследование влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредованные активацией барбитурового сайта ГАМК_A рецептора

С целью оценки влияния лигандов Sigma1R на фармакологические эффекты, зависящие от участка связывания барбитуратов с ГАМК_A рецептором, был проведен эксперимент на модели сна, вызванного пентобарбиталом, у мышей. Данная модель, основанная на введении барбитурата пентобарбитала, широко используется при оценке седативно-снотворных эффектов исследуемых соединений [199]

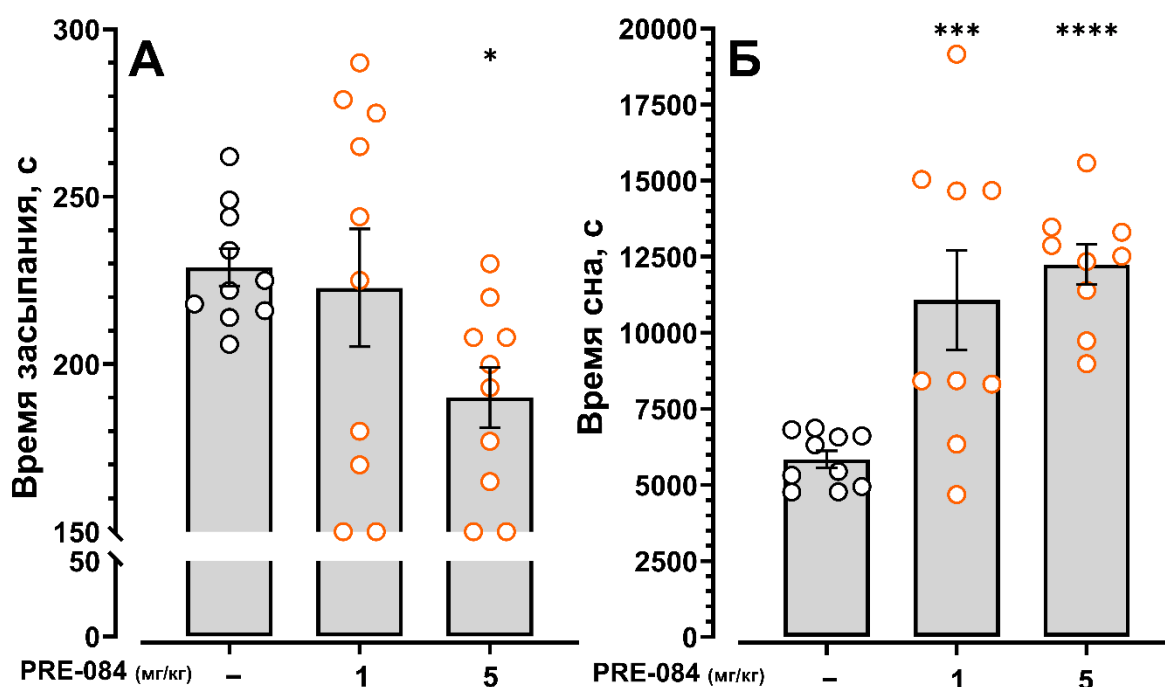
Антагонист Sigma1R BD-1047 в дозе 1 мг/кг предотвращал снотворный эффект пентобарбитала, статистически значимо увеличивая время засыпания ($p = 0,002$; Рисунок 25А) и сокращая продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом ($p = 0,004$; Рисунок 25Б). В дозе 10 мг/кг BD-1047 статистически значимо сокращал только продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом ($p = 0,006$; Рисунок 25Б).



Примечание – А – Время засыпания; Б – Время сна. BD-1047 (1 и 10 мг/кг) вводили внутривенно за 60 минут до введения пентобарбитала. Пентобарбитал вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой согласно однофакторному дисперсионному анализу с пост-hoc тестом Даннета: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Рисунок 25 – Влияние селективного антагониста Sigma1R BD-1047 на сон, вызванный пентобарбиталом

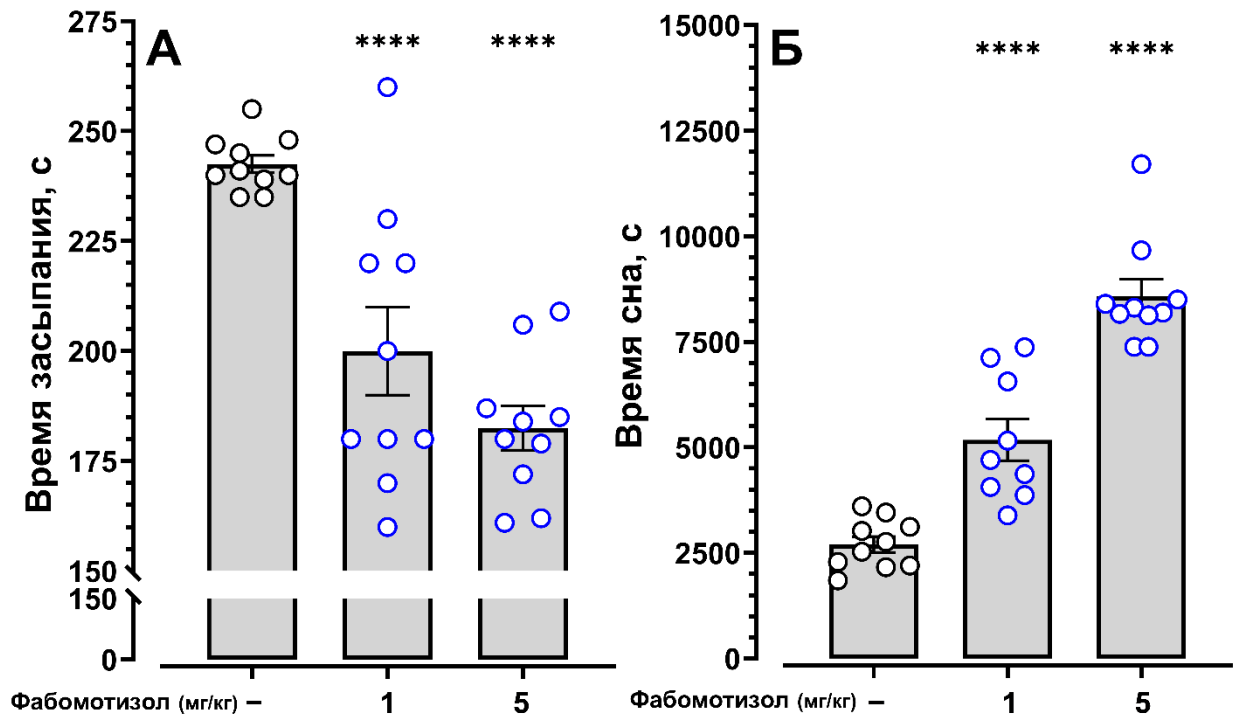
Введение агониста Sigma1R PRE-084 в дозе 1 мг/кг усиливало действие пентобарбитала, статистически значимо увеличивая продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом ($p = 0,0008$; Рисунок 26Б), но не влияя на время засыпания (Рисунок 26А). Увеличение дозы PRE-084 до 5 мг/кг приводило к статистически значимому сокращению времени засыпания ($p = 0,047$; Рисунок 26А) и увеличению продолжительности сна, вызванного пентобарбиталом ($p < 0,0001$; Рисунок 26Б).



Примечание – А – Время засыпания; Б – Время сна. PRE-084 (1 и 5 мг/кг) вводили внутривенно за 60 минут до введения пентобарбитала. Пентобарбитал вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой согласно однофакторному дисперсионному анализу с пост-хок тестом Даннета: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 26 – Влияние селективного агониста Sigma1R PRE-084 на сон, вызванный пентобарбиталом

Агонист Sigma1R фабомотизол как в дозе 1, так и в дозе 5 мг/кг усиливал действие пентобарбитала, статистически значимо увеличивая продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом ($p < 0,0001$; Рисунок 27Б), и также влиял на время засыпания, уменьшая его продолжительность ($p < 0,0001$; Рисунок 27А). Увеличение дозы до 5 мг/кг привело к большему, нежели при введении дозы 1 мг/кг, статистически значимому сокращению времени засыпания (на 32,9%, $p < 0,0001$; Рисунок 27А) и увеличению продолжительности сна, вызванного пентобарбиталом, более чем в 3 раза (Рисунок 27Б).



Примечание – А. Время засыпания; Б. Время сна. Фабототизол (1 и 5 мг/кг) вводили внутривенно за 60 минут до введения пентобарбитала. Пентобарбитал вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой согласно однофакторному дисперсионному анализу с пост-хос тестом Даннета: **** $p < 0,0001$.

Рисунок 27 – Влияние селективного агониста Sigma1R фабототизола на сон, вызванный пентобарбиталом

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

В исследовании выявлено ослабление зависимо от ГАМК_A снотворного эффекта пентобарбитала лигандами Sigma1R с антагонистической активностью. Агонисты Sigma1R PRE-084 и фабототизол укорачивали время засыпания и увеличивали продолжительность сна, вызванного пентобарбиталом.

Полученные данные позволяют предположить, что модуляция эффектов пентобарбитала лигандами Sigma1R может осуществляться через несколько потенциальных механизмов, недостаточно изученных на

сегодняшний день. Общеизвестно, что барбитураты аллостерически усиливают Cl^- ток через ГАМК_A и связывание бензодиазепинов с ГАМК_A рецепторов [254]. Вместе с тем, имеются данные о роли шаперон-зависимого снижения стресса ЭПР в нормализации сна [119]. Также опосредованные орексиновой системой эффекты цикла «сон — бодрствование» могут зависеть от Sigma1R [24, 289].

На основании данных о связи субъединичного состава ГАМК_A рецепторов и опосредуемых ими эффектов, можно предположить, что мишенями регуляторных влияний лигандов Sigma1R являются определенные подтипы ГАМК_A рецепторов. Показано, что основными мишенями пентобарбитала являются синаптические подтипы ГАМК_A рецепторов $\alpha 4\beta 2\gamma 2$, $\alpha 4\beta 2\delta$ [11] и $\alpha 1\beta 3\delta$ [91]. Влияния лигандов Sigma1R на эффекты пентобарбитала, предположительно, могут указывать на регуляцию тонических тормозных токов экстраинаптических подтипов ГАМК_A рецепторов, преимущественно представленных $\alpha 4-6$, $\beta 2/3$ и δ субъединицами [95, 364], и фазных тормозных токов синаптических подтипов [86, 378]. Также Sigma1R может влиять на функциональную активность ГАМК_A рецепторов, которая зависит от липидного окружения [315, 317]. Так, стимулирующее влияние ГАМК на хлорный ток через ГАМК_A рецепторы зависит от целостности липидных рафтов, а введение пентобарбитала способствует нарушению липид-белковой стабильности, снижению как общего количества белков, так и субъединиц GluN1 (NR1) и GluN2B (NR2B) NMDA рецепторов во фракции липидных рафтов мембран головного мозга крыс [308].

Таким образом, совокупность полученных экспериментальных результатов и литературных данных свидетельствует о том, что фармакологические эффекты пентобарбитала – аллостерического модулятора барбитуратного сайта ГАМК_A рецептора, модулируются активностью Sigma1R. Выявленный факт может быть обусловлен комплексом механизмов, включая регуляцию специфических подтипов ГАМК_A рецепторов, изменение

их липидного микроокружения и взаимодействие с другими нейромедиаторными системами.

Результаты исследования влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредованные активацией барбитурового сайта ГАМК_A рецептора, опубликованы в следующих работах:

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 [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 11. – P. 9580.

2. **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.

3. **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.

4. **Shangin, S.** 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.

5. **Шангин, С. В.** Изучение влияния лигандов Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредуемые барбитуровыми сайтами связывания ГАМК_A-рецепторов. / **С. В. Шангин**, С. А. Литвинова, Ю. В. Вахитова [и др.] // Достижения современной фармакологической науки:

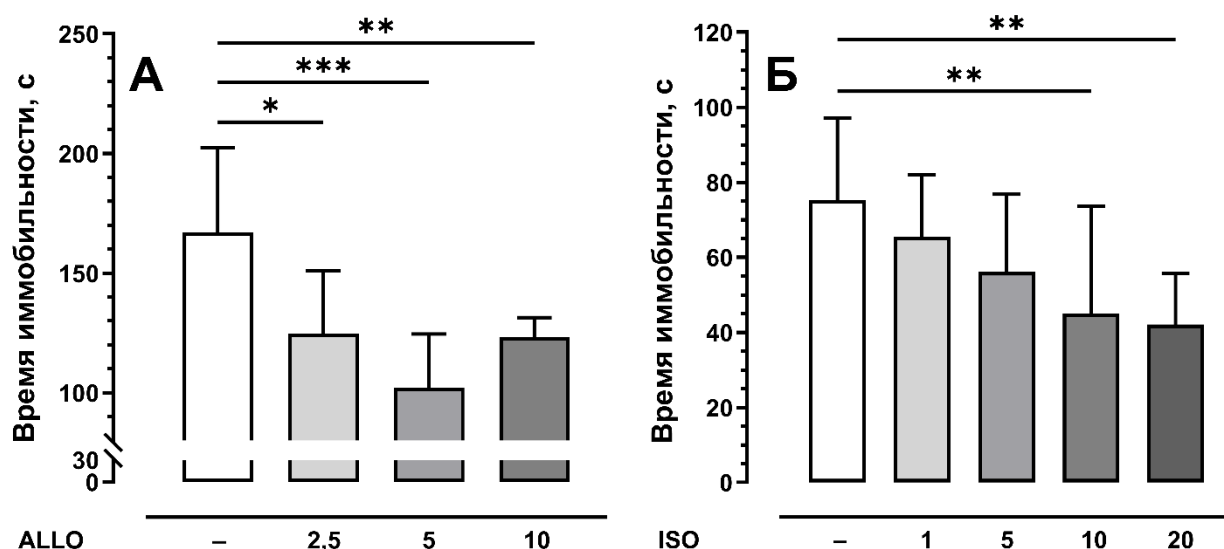
Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина и 80-летию Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова. – 2023. – С. 40-43.

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

3.7.1 Влияние аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона на депрессивно-подобное поведение мышей в тесте подвешивания за хвост

На начальном этапе исследований в тесте подвешивания за хвост было воспроизведено антидепрессивное действие аллопрегнанолона (ALLO), которое носило дозозависимый характер ($p = 0,0024$). В сравнении с контрольной группой (животные, получавшие растворитель), ALLO в диапазоне доз 2,5–10 мг/кг снижал время иммобильности, достигая наибольшей выраженности эффекта в дозе 5 мг/кг (Рисунок 28А). Изоаллопрегнанолон (ISO) в диапазоне доз 1 – 20 мг/кг также дозозависимо ($p < 0,0001$) снижал время иммобильности мышей. Минимальная эффективная доза ISO составила 10 мг/кг (Рисунок 28Б). Показано, что во всех экспериментах поведение мышей, получавших растворитель, не отличалось от поведения интактных животных, что указывает на отсутствие влияния введения растворителя на поведение экспериментальных животных (Таблица 13). Известно, что ISO является структурным аналогом (стереоизомером) и одним из эндогенных метаболитов ALLO. Однако, в литературных данных недостаточно экспериментальных работ, раскрывающих механизм действия и его активность *in vivo*, был проведен дополнительный анализ влияния ISO. Сила движений и энергия движений

отражают интенсивность и мощность попыток животного освободиться во время теста [234, 322]. Они автоматически измеряются с помощью компьютеризированных систем, что позволяет объективно оценивать активность мышей в данном тесте. Изменение данных параметров позволяет установить психостимулирующее и анксиолитическое действие у исследуемых соединений [350, 375]. В данном эксперименте ISO в дозе 5 и 10 мг/кг вызывал значительное увеличение энергии и силы движений. Наиболее эффективная доза 10 мг/кг повышала энергию движений на 206% ($p = 0,008$), а сила движений возрастала на 320% ($p = 0,002$) по сравнению с контрольной группой (Таблица 13).



Примечание – Ось абсцисс: дозы ALLO (А) и ISO (Б), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение). Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с множественным сравнением по Даннету: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Рисунок 28 – Влияние ALLO и ISO на время иммобильности мышей в тесте подвешивания за хвост

Таблица 13 – Влияние ALLO и ISO на время иммобильности мышей в тесте подвешивания за хвост

	Время иммобильности, s (мин; макс) Среднее зн. ± SD	Энергия движений, усл.ед. (мин; макс) Среднее зн. ± SD	Сила движений, усл.ед. (мин; макс) Среднее зн. ± SD
Интактные n = 8	(112,5; 195,5) 152,6 ± 28,15	-	-
Растворитель n = 8	(124,5; 223,6) 167,1 ± 35,23	-	-
ALLO 2.5 мг/кг n = 8	(85,5; 175,3) 124,8 ± 26,31 -25% vs. Растворитель p = 0,012	-	-
ALLO 5 мг/кг n = 8	(70,90; 131,7) 102,1 ± 22,56 -39% vs. Растворитель p = 0,0002	-	-
ALLO 10 мг/кг n = 8	(83,1; 155,6) 123,3 ± 23,24 -26% vs. Растворитель p=0,0091	-	-
Интактные n = 10	(29,4; 126,9) 70,47 ± 35,91	(527,6; 12561) 3641 ± 4367	(0; 41,6) 8,88 ± 13,66
Растворитель n = 10	(48,75; 112,5) 75,26 ± 21,9	(528,9; 3787) 1866 ± 1020	(0,1; 9,7) 4,64 ± 3,43
ISO 1 мг/кг n = 10	(44,14; 89,42) 65,5 ± 16,5	(1263; 6848) 3341 ± 2482	(1,8; 22,1) 8,87 ± 7,98
ISO 5 мг/кг n = 10	(31,41; 96,43) 56,12 ± 20,71 -25% vs. Растворитель p = 0,144	(1969; 8185) 4887 ± 2346 262% vs. Растворитель p = 0,049	(6,13; 27,9) 17,15 ± 8,33 370% vs. Растворитель p = 0,01
ISO 10 мг/кг n = 10	(0,78; 82,93) 44,98 ± 28,66 -40% vs. Растворитель p = 0,008	(1593; 14464) 5705 ± 4042 306% vs. Растворитель p = 0,008	(5,1; 47,3) 19,48 ± 13,92 420% vs. Растворитель p = 0,002
ISO 20 мг/кг n = 10	(25,38; 70,32) 42,9 ± 13,62 -44% vs. Растворитель p = 0,003	(992,8; 7808) 3315 ± 2498	(2,1; 22,9) 8,18 ± 7,01

Примечание – n – количество животных в экспериментальных группах. Данные представлены как минимальное и максимальное значение, среднее значение ± стандартное отклонение. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с множественным сравнением по Даннету.

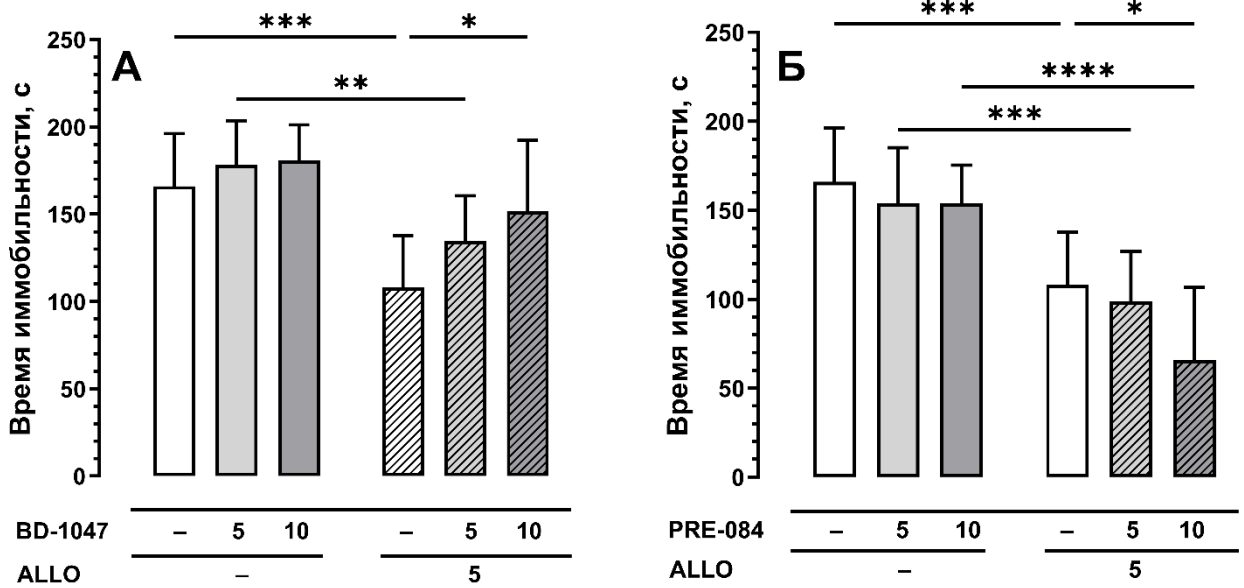
Полученные данные указывают на то, что ISO обладает не только антидепрессивным, но также и психостимулирующим действием. Максимальный эффект был достигнут при дозе 10 мг/кг, в то время как более высокая доза 20 мг/кг оказалась менее эффективной по показателям энергии и силы движений, что может свидетельствовать о седативном компоненте действия в более высоких концентрациях. Таким образом, результаты данного 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.

3.7.2 Влияние лигандов Sigma1R на эффекты аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона в тесте подвешивания за хвост

Показано, что ни агонист Sigma1R PRE-084 в диапазоне доз 1–10 мг/кг, ни антагонист Sigma1R BD-1047 в дозах 2.5 – 10 мг/кг не изменяли параметры поведения мышей в тесте подвешивания за хвост (Рисунки 29 и 30). Предварительное введение BD-1047 в дозе 10 мг/кг ослабляло антидепрессивное действие ALLO, увеличивая время иммобильности ($p = 0,014$; Рисунок 29). BD-1047 статистически значимо ослаблял действие ISO в меньшей дозе 2,5 мг/кг, увеличивая время иммобильности ($p = 0,044$), снижая энергию движений ($p < 0,0001$) и силу движений ($p = 0,002$) (Рисунок 29, Таблица 14). Введение экспериментальным животным агониста Sigma1R PRE-084 за 30 мин до ALLO или ISO усиливало их антидепрессивное действие, уменьшая время иммобильности мышей (в сравнении с ALLO 5 мг/кг: $p = 0,023$; в сравнении с ISO 10 мг/кг: $p = 0,035$, Рисунок 30, Таблица 14). При этом, в отличие от результатов с антагонистом Sigma1R BD-1047, время иммобильности при совместном введении ALLO или ISO с PRE-084 статистически значимо отличалось от значений животных, которым вводился только PRE-084 (в сравнении с PRE-084 10 мг/кг: $p < 0,0001$; в сравнении с PRE-084 2.5 мг/кг: $p < 0,0001$). Таким образом, антагонист Sigma1R BD-1047

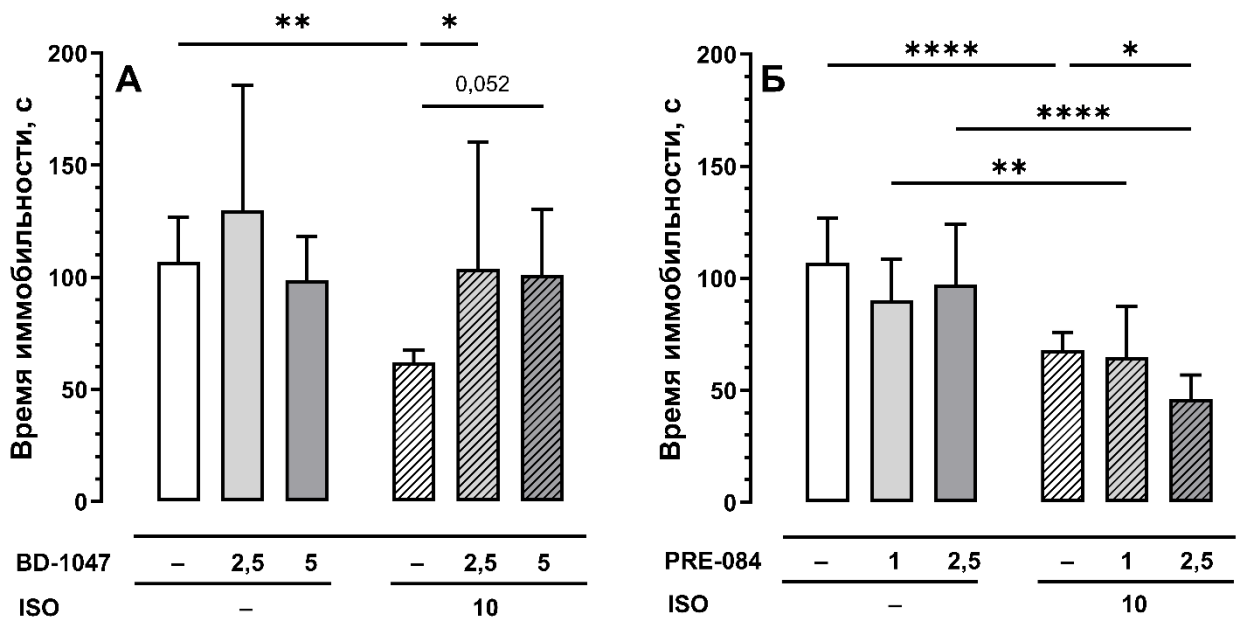
препятствовал формированию антидепрессивного действия при совместном введении с ALLO и ISO, тогда как предварительное введение агониста Sigma1R PRE-084 способствовало антидепрессивному эффекту ALLO и ISO у мышей в тесте подвешивания за хвост. Примечательно, что для модуляции эффектов ISO, действующего в более высоких дозах по сравнению с ALLO, требуются меньшие дозы лигандов Sigma1R.

Как и в предыдущем эксперименте, ISO в дозе 10 мг/кг оказывал выраженное психостимулирующее действие, что проявлялось в статистически значимом увеличении энергии ($p < 0,0001$) и силы движений ($p < 0,0001$) по сравнению с контрольной группой. Антагонист Sigma1R BD-1047 в дозах 2,5 и 5 мг/кг значимо снижал психостимулирующую активность ISO. Совместное введение BD-1047 с ISO приводило к достоверному снижению как энергии ($p < 0,0001$ для обеих доз), так и силы движений ($p = 0,002$ для обеих доз) до уровня контрольной группы, при этом самостоятельное введение BD-1047 не оказывало существенного влияния на изучаемые параметры. Влияние агониста Sigma1R PRE-084 на параметры двигательной активности было неоднозначным, так как совместное введение с ISO не приводило к дальнейшему росту энергии и силы движений по сравнению с ISO, а в группе PRE-084 1 мг/кг совместно с ISO наблюдалась высокая вариабельность данных по этим показателям. Полученные результаты убедительно доказывают роль Sigma1R в антидепрессивном действии нейростероида ISO, поскольку его эффекты полностью блокируются антагонистом BD-1047 и потенцируются агонистом PRE-084.



Примечание – Ось абсцисс: дозы ALLO (А, Б), BD-1047 (А), PRE-084 (Б), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение). Значимость межгрупповых различий согласно двухфакторному ANOVA с множественным сравнением по Шидак: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 29 – Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ALLO в тесте подвешивания за хвост



Примечание – Ось абсцисс: дозы ISO (А, Б), BD-1047 (А), PRE-084 (Б), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение). Значимость межгрупповых различий согласно двухфакторному ANOVA с множественным сравнением по Шидак: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 30 – Влияние лигандов Sigma1R на эффекты ISO в тесте подвешивания за хвост

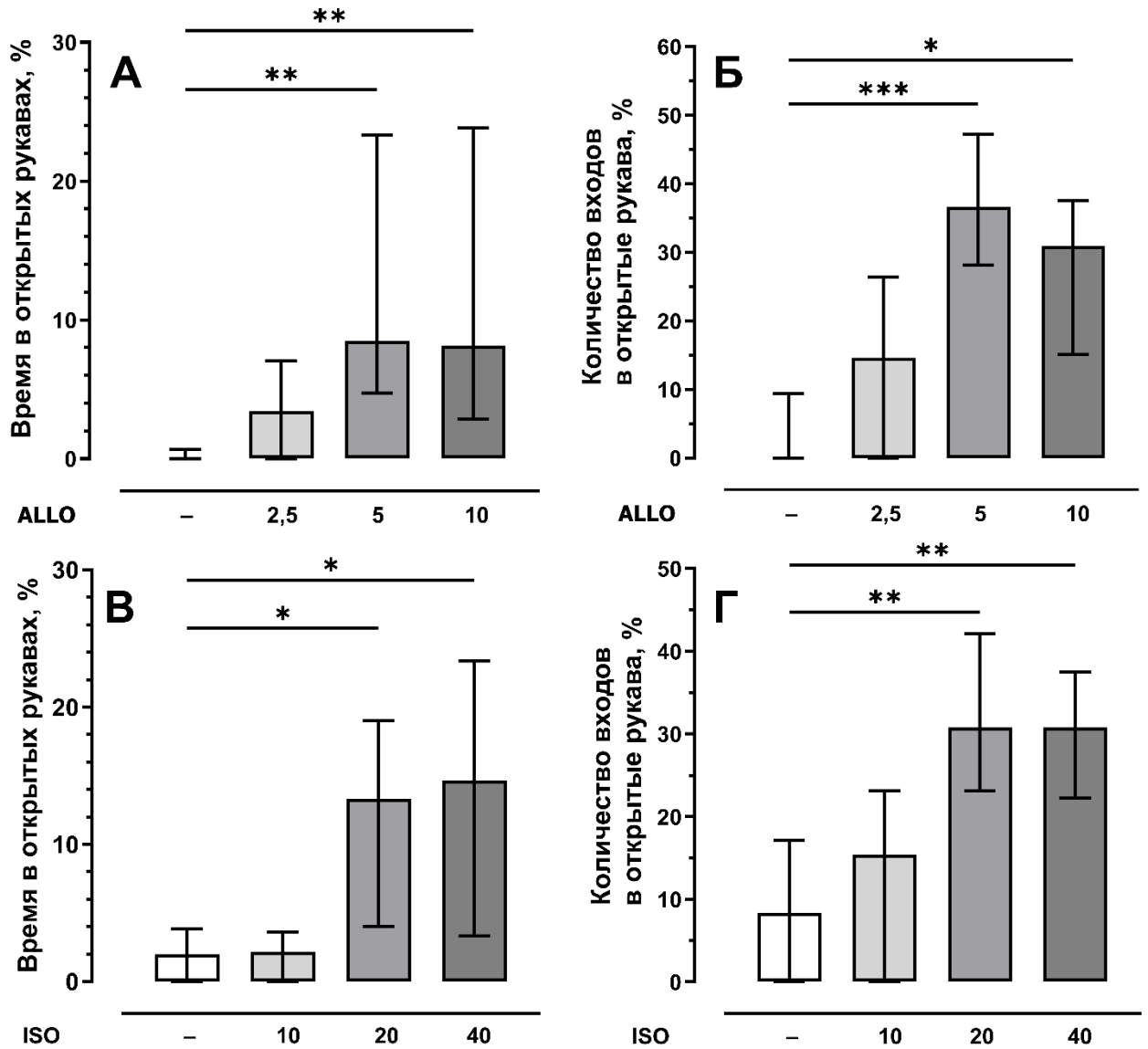
Таблица 14 – Влияние лигандов Sigma1R на эффекты изоаллопрегнанолона в тесте подвешивания за хвост

	Время иммобильности, s (мин; макс) Среднее зн. ± SD	Энергия движений, усл.ед. (мин; макс) Среднее зн. ± SD	Сила движений, усл.ед. (мин; макс) Среднее зн. ± SD
Растворитель n = 8	(76,76; 144,94) 106,86 ± 20,10	(663; 1459,4) 1223,3 ± 262,77	(0,6; 4,2) 2,55 ± 1,26
BD-1047 2,5 мг/кг n = 7	(54,47; 185,28) 130,05 ± 55,62	(157,2; 1958,8) 755,1 ± 663,10	(0; 6,05) 1,77 ± 2,32
BD-1047 5 мг/кг n = 10	(76,63; 130,09) 98,93 ± 19,48	(393,8; 1811,1) 1076,7 ± 425,98	(0; 5,14) 2,64 ± 1,71
PRE-084 1 мг/кг n = 10	(66,37; 123,21) 90,10 ± 18,50	(530,8; 2710,9) 1673,9 ± 833,95	(0,83; 10,69) 5,24 ± 3,46
PRE-084 2,5 мг/кг n = 10	(58,76; 131,86) 97,31 ± 26,73	(539,8; 2365) 1294,9 ± 558,15	(0,51; 8,28) 4,15 ± 2,31
ISO 10 мг/кг n = 10	(51,05; 73,28) 62,05 ± 5,43 p = 0,004 vs. Растворитель	(1831,8; 2588,1) 2227,3 ± 292,35 p < 0,0001 vs. Растворитель	(4,4; 7,55) 5,83 ± 1,07 p < 0,0001 vs. Растворитель
BD-1047 2,5 мг/кг ISO 10 мг/кг n = 7	(45,46; 212,16) 103,70 ± 56,81 p = 0,044 vs. ISO 10 мг/кг	(120,4; 2366) 1187,6 ± 783,45 p < 0,0001 vs. ISO 10 мг/кг	(0; 6,59) 2,80 ± 2,28 p = 0,002 vs. ISO 10 мг/кг
BD-1047 5 мг/кг ISO 10 мг/кг n = 8	(65,04; 134,11) 101,09 ± 29,35 p = 0,052 vs. ISO 10 мг/кг	(588,9; 1797,6) 989,66 ± 402,38 p < 0,0001 vs. ISO 10 мг/кг	(1,14; 6,01) 2,93 ± 1,56 p = 0,002 vs. ISO 10 мг/кг
ISO 10 мг/кг n = 10	(58,68; 81,56) 68,00 ± 7,95 p < 0,0001 vs. Растворитель	(1831,8; 2658,8) 2243,80 ± 313,02 p = 0,006 vs. Растворитель	(4,63; 7,55) 5,85 ± 1,04 p = 0,013 vs. Растворитель
PRE-084 1 мг/кг ISO 10 мг/кг n = 10	(27,06; 90,43) 64,93 ± 22,57 p = 0,003 vs. PRE-0841 мг/кг	(614,3; 4728,5) 1831,2 ± 1351,35	(1,04; 14,34) 5,45 ± 4,60
PRE-084 2,5 мг/кг ISO 10 мг/кг n = 10	(19,77; 60,96) 46,35 ± 10,58 p < 0,0001 vs. PRE-084 2,5 мг/кг p = 0,035 vs. ISO 10 мг/кг	(818,7; 3931,1) 1934,0 ± 898,10	(1,98; 16,43) 6,98 ± 4,45

Примечание – n – количество животных в экспериментальных группах. Данные представлены как минимальное и максимальное значение, среднее значение ± стандартное отклонение. Значимость межгрупповых различий согласно однофакторному ANOVA с множественным сравнением по Шидак.

3.7.3 Эффекты аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона на тревожно-подобное поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Показано, что ALLO в дозе 2,5 мг/кг не оказывал статистически значимого влияния на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт, тогда как в дозе 5 и 10 мг/кг увеличивал время нахождения в открытых рукавах (5 мг/кг: $p = 0,003$, 10 мг/кг: $p = 0,002$) и количества заходов в открытые рукава (5 мг/кг: $p = 0,0004$, 10 мг/кг: $p = 0,013$) (Рисунок 31АБ). ISO обладал сходным анксиолитическим действием в дозах 20 (увеличивал время нахождения в открытые рукава: $p = 0,013$, увеличивал количество заходов в открытые рукава: $p = 0,001$) и 40 мг/кг (увеличивал время нахождения в открытых рукавах: $p = 0,012$, увеличивал количество заходов в открытые рукава: $p = 0,002$) (Рисунок 31ВГ). В сравнении с интактными мышами введение растворителя нейростероидов не оказывало влияния на поведение животных (Таблица 15). Для дальнейших экспериментов в тесте ПКЛ с PRE-084 и BD-1047 отобраны меньшие эффективные дозы ALLO 5 мг/кг и ISO 20 мг/кг.



Примечание – Ось абсцисс: дозы ALLO (А, Б) и ISO (В, Г), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде медианы (IQR). Значимость межгрупповых различий согласно критерию Краскела-Уоллеса с множественным сравнением по Данну: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Рисунок 31 – Влияние ALLO и ISO на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Таблица 15 – Влияние ALLO и ISO на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

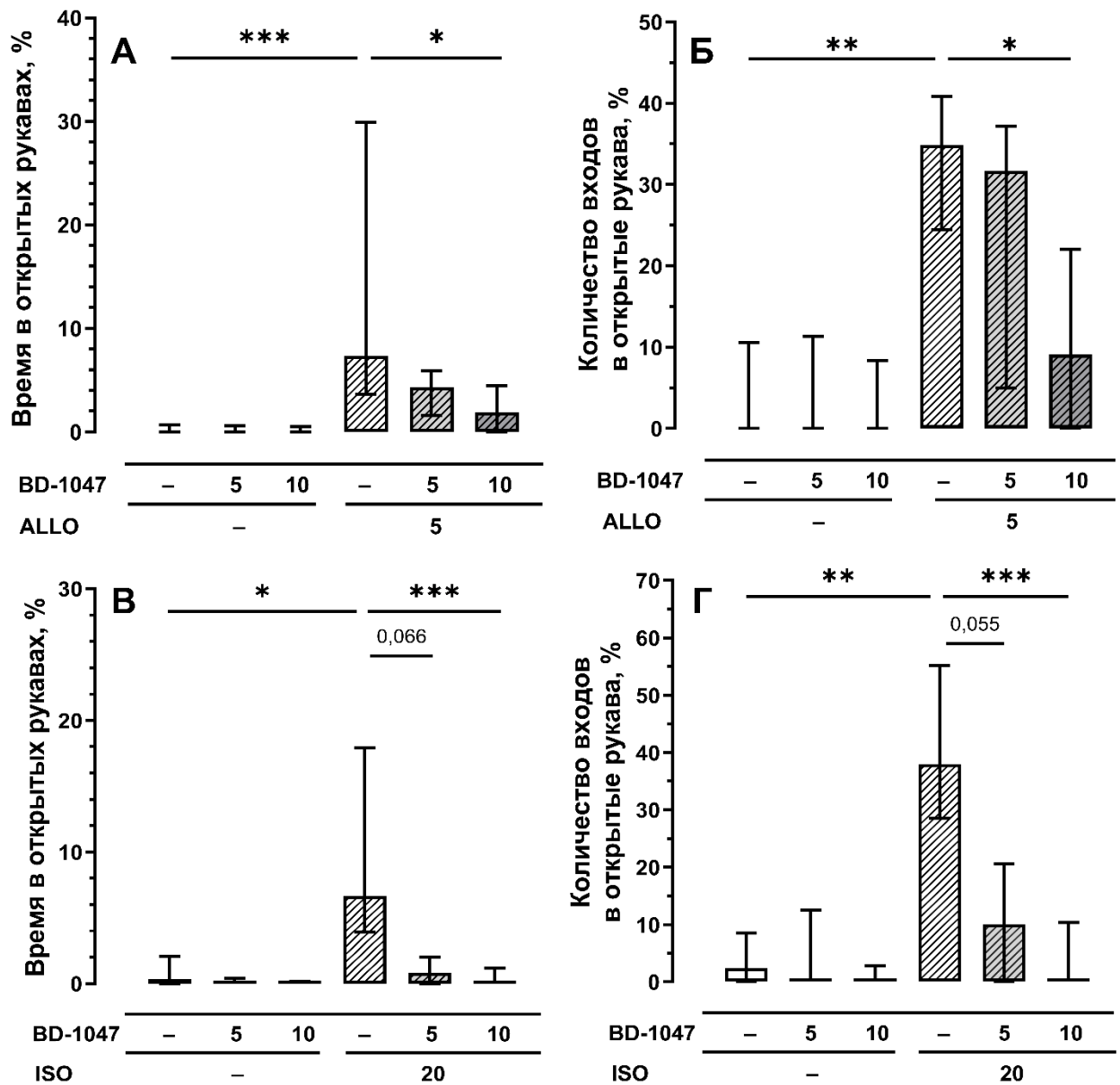
	Время в открытых рукавах, % (мин; макс) медиана (q25-q75)	Количество входов в открытые рукава, % (мин; макс) медиана (q25-q75)
Интактные n = 8	(0,0; 0,0) 0,0 (0,0-0,0)	(0,0; 0,0) 0,0 (0,0-0,0)
Растворитель n = 8	(0,0; 1,4) 0,0 (0,0-0,67)	(0,0; 20,0) 0,0 (0,0-9,42)
ALLO 2,5 мг/кг n = 8	(0,0; 9,1) 3,46 (0,0-7,05)	(0,0; 41,7) 14,58 (0,0-26,43)
ALLO 5 мг/кг n = 8	(2,7; 37,6) 8,50 (4,72-23,35) p = 0,001	(20,0; 50,0) 36,67 (28,15-47,19) p = 0,0004
ALLO 10 мг/кг n = 8	(1,0; 40,8) 8,14 (2,87-23,84) p = 0,003	(9,1; 40,0) 30,95 (15,15-37,5) p = 0,014
Интактные n = 10	(0,0; 1,3) 0,0 (0,0-0,0)	(0,0; 7,69) 0,0 (0,0-0,0)
Растворитель n = 13	(0,0; 17,31) 2,0 (0,0-3,83)	(0,0; 25,0) 8,33 (0,0-17,14)
ISO 10 мг/кг n = 12	(0,0; 9,23) 2,17 (0,0-3,54)	(0,0; 25,0) 15,39 (0,0-23,16)
ISO 20 мг/кг n = 11	(3,0; 36,0) 13,33 (4,0-19,0) p = 0,013	(20,0; 69,23) 30,77 (23,08-42,11) p = 0,001
ISO 40 мг/кг n = 11	(2,67; 60,0) 14,67 (3,33-23,33) p = 0,012	(10,0; 68,93) 30,77 (22,22-37,5) p = 0,002
Примечание – n – количество животных в экспериментальной группе. Данные представлены как минимальные и максимальные значение, медиана (q25-q75). Значимость межгрупповых различий согласно критерию Краскела-Уоллеса с множественным сравнением по Данну.		

3.7.4 Влияние лигандов Sigma1R на эффекты аллопрегнанолона и изоаллопрегнанолона в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Показано, что антагонист Sigma1R BD-1047 в дозах 5 или 10 мг/кг не влиял на поведение мышей в тесте приподнятый крестообразный лабиринт. Введение BD-1047 в дозе 10 мг/кг за 30 мин до ALLO и ISO блокировало

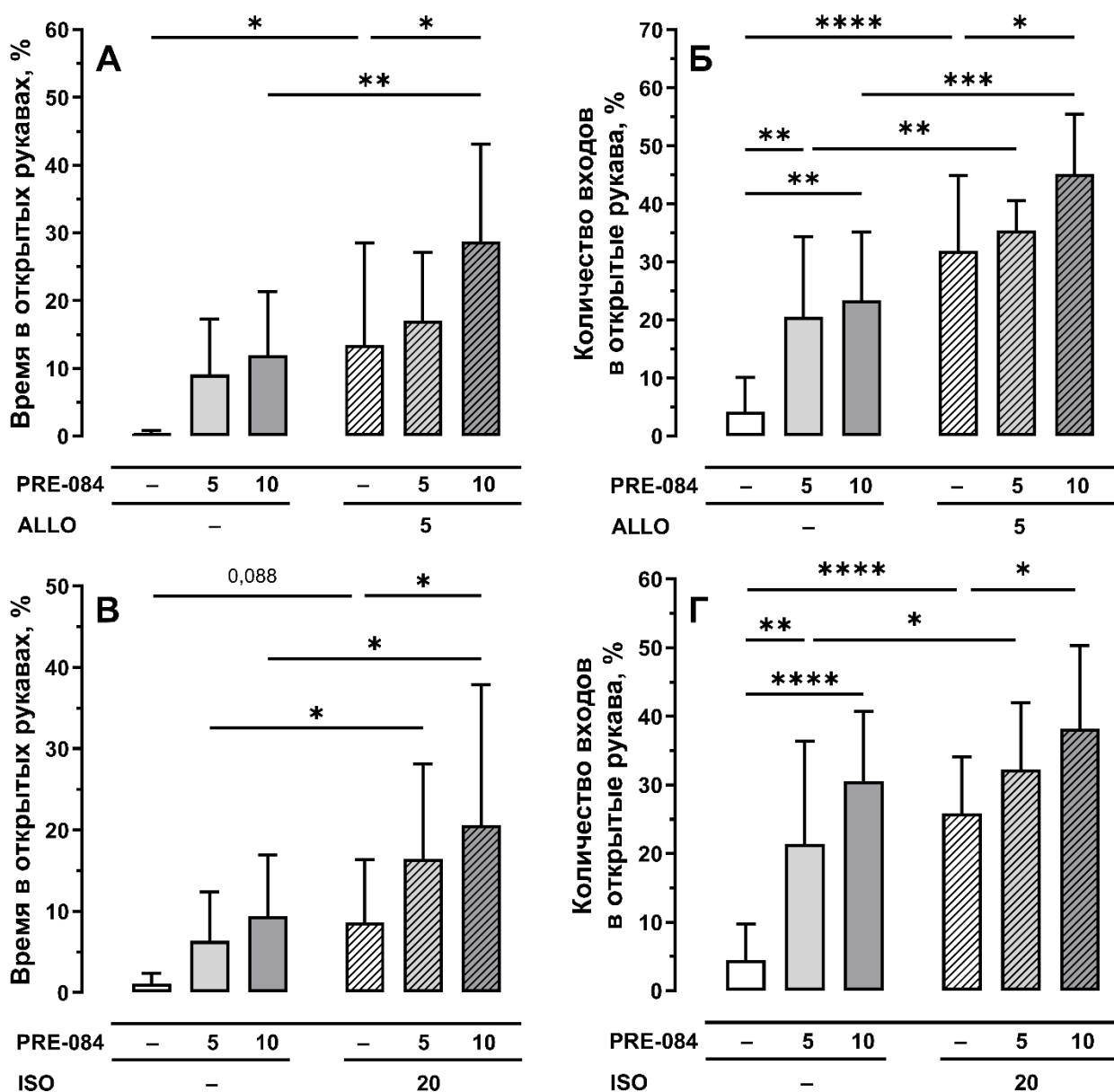
анксиолитическое действие веществ, а именно снижало время нахождения в открытых рукавах (ALLO: $p = 0,03$, ISO: $p = 0,0008$) и количество заходов в открытые рукава (ALLO: $p = 0,03$, ISO: $p = 0,0006$) (Рисунок 32). Агонист Sigma1R PRE-084 в дозах 5 и 10 мг/кг проявлял анксиолитикоподобные свойства по показателю количества заходов в открытые рукава ПКЛ (5 мг/кг: $p = 0,001$, 10 мг/кг: $p = 0,002$) (Рисунок 33БГ). PRE-084 в дозе 10 мг/кг усиливал анксиолитическое действие ALLO (5 мг/кг), оцениваемого как по времени нахождения в открытых рукавах (ALLO: $p = 0,02$), так и по количеству заходов в открытые рукава ПКЛ (ALLO 5 мг/кг: $p = 0,04$) (Рисунок 33). PRE-084 в дозе 10 мг/кг также способствовал усилению анксиолитического действия ISO, однако его влияние на время нахождения в открытых рукавах (ISO 20 мг/кг: $p = 0,03$) и количество заходов в открытые рукава (ISO 20 мг/кг: $p = 0,03$) оказалось менее выраженным (Рисунок 33БГ). При этом, в отличие от результатов с антагонистом Sigma1R BD-1047, и время нахождения в открытых рукавах, и количество входов в открытые рукава при совместном введении ALLO или ISO с PRE-084 статистически значимо отличалось от значений животных, которым вводился только PRE-084 (ALLO: в сравнении с PRE-084: $p = 0,003$ для времени, $p = 0,0002$ для количества входов; ISO: в сравнении с PRE-084: $p = 0,02$ для времени, $p = 0,12$ для количества входов).

Можно заключить, что антагонист Sigma1R BD-1047 препятствует анксиолитическому действию ALLO и ISO. Напротив, агонист Sigma1R PRE-084 и изученные нейростероиды проявляют взаимоусиливающее анксиолитическое действие в тесте приподнятый крестообразный лабиринт.



Примечание – Ось абсцисс: дозы ALLO (А, Б), ISO (В, Г), BD-1047 (А – Г), выраженные в мг/кг. Данные представлены в виде медианы (IQR). Значимость межгрупповых различий согласно критерию Краскела-Уоллеса с множественным сравнением по Данну: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Рисунок 32 – Влияние антагониста SignalR BD-1047 на эффекты ALLO и ISO в тесте приподнятый крестообразный лабиринт



Примечание – 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). Значимость межгрупповых различий согласно двухфакторному ANOVA с множественным сравнением по Шидак: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

Рисунок 33 – Влияние агониста Sigma1R PRE-084 на эффекты ALLO в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Известно, что аффинность ALLO и ISO к нейростероидным сайтам ГАМК_A рецептора превышает их аффинность к Sigma1R не менее, чем на порядок [53, 97, 288], что позволяет анализировать влияния селективных

лигандов Sigma1R на эффекты аллостерических модуляторов ГАМК_A рецептора. Тем не менее, взаимодействие нейростероидов с Sigma1R может вносить вклад в их нейропротективные и нейропластические эффекты, поскольку Sigma1R участвует в регуляции стресса ЭПР, кальциевого гомеостаза и нейротрофических факторов [216].

На основании полученных результатов установлено, что фармакологическая регуляция шаперона Sigma1R изменяет фармакологические эффекты ALLO и ISO в тестах ПХ и ПКЛ. В экспериментах воспроизведены быстро развивающиеся антидепрессивные и анксиолитические эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецепторов ALLO [15, 100, 166, 331]. ISO проявлял эффекты, сходные с таковыми у ALLO, но при более высоких дозах. Агонист Sigma1R PRE-084 не вызывал самостоятельного антидепрессантоподобного действия в диапазоне доз до 10 мг/кг, что согласуется с результатами, полученными на мышцах в тесте вынужденного плавания [311]. PRE-084 проявил анксиолитикоподобные свойства, сходные с эффектами соединений с агонистическим влиянием на Sigma1R только в высоких дозах [363]. Полученные результаты согласуются с множеством данных о способности соединений со свойствами агонистов Sigma1R снижать тревожное поведение экспериментах на животных [156-159, 241], что соответствует гипотезе Т. Hayashi о вкладе шаперона Sigma1R в цитопротекцию в условиях физиологического стресса [126]. Антагонист Sigma1R BD-1047 препятствовал антидепрессивному и анксиолитическому действию обоих нейростероидов, тогда как агонист Sigma1R PRE-084 усиливал их эффекты. Выявленное влияние лигандов Sigma1R на эффекты ALLO согласуется с описанными ранее результатами с использованием бензодиазепиновых и барбитуратных положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецептора.

Для обсуждения модулирующего влияния лигандов Sigma1R на зависимые от ГАМК_A рецептора эффекты нейростероидов, необходимо

обратиться к известным данным о механизмах действия ALLO и ISO. Если фармакодинамика ALLO достаточно хорошо изучена, то возможные причины сходства фармакологического действия ISO и ALLO требуют анализа. Большинство синаптических ГАМК_A рецепторов включают $\alpha 1-3$, β и $\gamma 2$ субъединицы, тогда как экстраинаптические преимущественно образованы $\alpha 4-6$, β , γ или δ субъединицами [223, 228]. Считается, что быстрые антидепрессивный и анксиолитический эффекты ALLO обусловлены его взаимодействием с аллостерически независимыми $\beta(+)-\alpha(-)$ интер- и $\alpha 1$ -, $\beta 3$ -интрасубъединичными сайтами связывания как синаптических, так и экстраинаптических ГАМК_A рецепторов [18, 28, 103, 108, 272]. Вследствие активации $\beta(+)-\alpha(-)$ интрасубъединичного и $\alpha 1$ интрасубъединичного сайтов ALLO стабилизирует ГАМК_A рецептор в открытом состоянии [327, 367]. Нейростероидные положительные аллостерические модуляторы интер- и интрасубъединичных сайтов вызывают соответственно короткую фазическую или длительную тоническую потенциацию входящего тока Cl^- , что согласуется с особенностями функциональной активности синаптических и экстраинаптических ГАМК_A рецепторов [103, 186, 272, 367].

Ранее установлено, что ISO не взаимодействует с $\beta(+)-\alpha(-)$ интрасубъединичными сайтами связывания нейростероидов ГАМК_A рецептора, но проявляет аффинность к $\alpha 1$ -, $\beta 3$ интрасубъединичными сайтами связывания. Средние значения K_i ALLO и ISO для наиболее аффинных $\alpha 1$ интрасубъединичных сайтов составили соответственно 0,11 и 0,36 μM . Как и ALLO он способствует повышению связывания селективного агониста ГАМК_A рецептора мусцимола, однако вызывает ингибирование Cl^- тока вследствие десенситизации рецептора [53, 327, 367]. Также показано, что являясь $C3\beta-OH$ эписмером ISO неактивен в отношении экстраинаптических ГАМК_A рецепторов, включающих δ субъединицы [46]. Взаимодействие ISO с $\alpha 1$ интрасубъединичным сайтом в качестве отрицательного аллостерического модулятора (ОАМ) вероятно

обуславливает выявленные в *in vitro* и *in vivo* исследованиях свойства антагониста ALLO [150, 367]. В экспериментах ISO (Sepranolone) в дозе 2,0 мг/кг способствовал повышению тревоги самок мышей в тесте ПКЛ [183]. Однако, показанные эффекты ISO согласуются с результатами клинического исследования возможности коррекции предменструального дисфорического расстройства, в котором ISO проявлял антидепрессивные и анксиолитические свойства [19, 32]. Не исключено, что антидепрессивное действие ISO может быть опосредовано нивелированием предполагаемого в клинических исследованиях ГАМК_A зависимого ответа при повышении уровня эндогенного ALLO в условиях стрессового воздействия в тесте ПХ [16, 19, 32, 105, 349]. С другой стороны, минимальная эффективная доза ISO в тесте ПКЛ оказалась довольно высокой (20 мг/кг), что может отражать его меньшую аффинность к нейростероидным сайтам ГАМК_A рецептора [53]. Принимая во внимание известные данные докинг анализа, в работе [327] обсуждается возможность активации ISO $\beta(+)$ - $\alpha(-)$ интерсубъединичных нейростероидных сайтов ГАМК_A рецептора вследствие локального повышения концентрации ISO в области трансмембранных доменов α и β субъединиц.

Эпимеризация $C3\beta \rightarrow C3\alpha$ ISO до ALLO и последующее действие последнего как положительного аллостерического модулятора ГАМК_A рецептора также может способствовать сходным влияниям ISO и ALLO в тестах ПХ и ПКЛ. Так в экспериментах на крысах показано, что через 8 минут после внутривенного введения ISO крысам (32 мг/кг) уровни ALLO в плазме крови, гиппокампе и стриатуме сравнимы с определяемыми при введении ALLO в фармакологически эффективной дозе 2 мг/кг [149, 246]. Трансформация экзогенного ISO в ALLO показана и для человека [136]. Таким образом, вероятно, что сходство эффектов ALLO и ISO является следствием комплекса молекулярных механизмов, включающих возможность эпимеризации нейростероидов и различную способность

эпимеров к взаимодействию с нейростероидными сайтами субпопуляций ГАМК_A рецепторов [46, 334].

Для ALLO выявлена невысокая аффинность к Sigma1R, близкая к аффинности дегидроэпиандростерон-сульфату (DHEAS) [97]. Данные *in vitro* экспериментов демонстрируют незначительную способность ISO вытеснять из мест связывания высокоаффинный лиганд Sigma1R SA4503 [188, 288]. Ранее была обнаружена способность селективных антагонистов Sigma1R шаперона препятствовать антидепрессанто-подобным эффектам DHEAS и прегненолона сульфата, обладающих агонистическим влиянием на шаперон [77, 271]. Однако, сходно с ISO эти соединения являются отрицательными аллостерическими модуляторами ГАМК_A рецептора [186], а их эффекты, по-видимому, связаны с другими, зависимыми от Sigma1R, сигнальными системами, включенными в механизм антидепрессивного действия [362].

Нельзя исключить, что усилению эффектов нейростероидов при введении агониста Sigma1R может способствовать увеличению содержания ALLO в ЦНС. Показано, что ингибиторы обратного захвата серотонина, обладающие лигандными свойствами к Sigma1R шаперону [147, 362], вызывают повышение уровня ALLO, в том числе в дозах, недостаточных для ингибирования переносчика серотонина [15, 49]. Кроме того, антидепрессанты, аффинные к Sigma1R, способны потенцировать антидепрессивное действие ALLO при совместном введении [165]. Однако, антидепрессанты, не обладающие аффинностью к Sigma1R, также вызывают повышение уровня ALLO в ЦНС [49, 147], что делает выдвинутое предположение менее вероятным.

Различия в дозах лигандов Sigma1R, требуемые для модуляции эффектов ALLO или ISO, могут указывать на неодинаковую чувствительность нейростероидных сайтов субпопуляций ГАМК_A рецептора к зависимым от Sigma1R шаперонным воздействиям. Известно, что агонистическое воздействие на Sigma1R способствует диссоциации комплекса шаперонов Sigma1R BiP в ЭПР с усилением их шаперонной

активности и транслокации Sigma1R из ЭПР в область цитоплазматической мембраны [129]. Вызванная агонистом внутриклеточная транслокация Sigma1R развивалась в течение 30 мин [129], что соответствовало скорости включения ГАМК_A рецепторов, содержащих $\gamma 2$ субъединицы, в цитоплазматическую мембрану [153] и времени наступления эффектов нейростероидов в данной работе. Не исключено, что активация шаперонной функции Sigma1R способствует восстановлению нарушенной стрессовым воздействием в поведенческих тестах конформации ГАМК_A рецептора как в ЭПР, так и в области цитоплазматической мембраны нейронов [310]. Восстановление физиологической конформации ГАМК_A, в свою очередь, обеспечивают взаимодействия ALLO и ISO с интер- и интрасубъединичными нейростероидными сайтами ГАМК_A, обуславливающие усиление антидепрессивного и анксиолитического действия нейростероидов. Это предположение согласуется с данными исследований, где показана важная роль активации основного шаперона ЭПР BiP в фолдинге и траффике ГАМК_A рецепторов [80].

Результаты исследования влияния агонистов и антагонистов шаперона Sigma1R на фармакологические эффекты, зависящие от нейростероидного сайта связывания ГАМК_A рецептора, опубликованы в следующих работах:

1. **Шангин, С. В.** Влияние лигандов Sigma1R на эффекты аллостерических модуляторов нейростероидного сайта ГАМК_A рецептора / М. В. Воронин, **С. В. Шангин**, Ю. В. Вахитова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2026. – Т. 60. – №. 1. – С. 1-7.

2. **Шангин, С. В.** Оценка антидепрессивного и анксиолитического действия аллопрегнена 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.

3. **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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное комплексное экспериментальное исследование демонстрирует роль шаперона Sigma1R в модуляции функциональной активности ГАМК_A рецепторов, являющегося важной мишенью многих нейротропных препаратов. Полученные данные свидетельствуют 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% VIC 0,4% PIC 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 тоже 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, зависимых от бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецептора.

Также на моделях судорог, вызванных внутривенным введением PTZ, BIS и PIC обнаружено собственное противосудорожное действия агониста Sigma1R фабомотизола. Противосудорожный эффект фабомотизола снижался при предварительном введении антагониста Sigma1R BD-1047, что доказывает опосредованность данного эффекта активацией Sigma1R вне зависимости от способа фармакологической блокады ГАМКергической передачи. 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 эффектов бензодиазепинов, и, возможно, противосудорожных препаратов с иными механизмами действия.

В исследовании выявлено модулирующее влияние лигандов Sigma1R на эффекты, зависимые 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 свидетельствует, что лигандная активация Sigma1R опосредует фармакологические эффекты, зависимые 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 указывают 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 реализацию нескольких механизмов, обуславливающих регуляцию лигандами Sigma1R функциональной 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 доступности 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 внутриклеточного белка-шаперона Sigma1R в регуляции функционального состояния ГАМК_A рецептора, в частности, его аллостерических сайтов – бензодиазепинового, барбитурового и нейростероидного. В работе продемонстрировано разнонаправленное влияние лигандов Sigma1R на фармакологические эффекты, опосредованные ГАМК_A рецепторами: агонисты Sigma1R потенцируют, а антагонисты – ослабляют фармакологические эффекты положительных аллостерических модуляторов ГАМК_A рецептора.

Полученные результаты углубляют понимание фундаментальных механизмов межмолекулярного взаимодействия в ЦНС и открывают перспективы для разработки подходов к фармакологической коррекции ряда патологических состояний, таких как эпилепсия, тревожные и депрессивные расстройства, нарушения сна. В частности, сочетанное применение агонистов Sigma1R с существующими препаратами, являющимися положительными аллостерическими модуляторами ГАМК_A, может позволить снизить их дозы и минимизировать побочные эффекты, а также преодолеть резистентность к терапии.

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 с данной активностью. Раскрытие механизмов действия фабомотизола дает основание для расширения показаний препарата для терапии ряда распространенных заболеваний, связанных с эпилепсией.

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 бикикуллина.

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

аллопрегнанолонa и изоаллопрегнанолонa зависят от активности шаперона Sigma1R.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-HT1A	Серотониновый рецептор типа 1A
5-HT2A/2C	Серотониновые рецепторы типов 2A и 2C
5-HT₃	Серотониновый рецептор типа 3
ALLO	Аллопрегнаноолон (3 α -гидрокси-5 α -прегнан-20-он)
AMPK	АМФ-активируемая протеинкиназа (AMP-activated protein kinase)
ANOVA	Дисперсионный анализ (Analysis of Variance)
AP-1	Активаторный белок 1 (Activator Protein 1)
AP2	Адапторный белок 2
ASIC1	Кислоточувствительный ионный канал 1 (Acid-Sensing Ion Channel 1)
ATF4	Активирующий транскрипционный фактор 4
BD-1047	N'-[2-(3,4-дихлорфенил)этил]-N,N,N'-триметилэтилендиамин, селективный антагонист Sigma1R
BD-1063	1-[2-(3,4-дихлорфенил)этил]-4-метилпиперазин, антагонист Sigma1R
BDNF	Мозговой нейротрофический фактор (Brain-Derived Neurotrophic Factor)
BIC	Бикукуллин
BiP	Иммуноглобулинсвязывающий белок эндоплазматического ретикулума (Binding Immunoglobulin Protein, GRP-78)
CaMKII	Кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II
CB1R	Каннабиноидный рецептор 1 типа
CNV	Вариация числа копий (Copy Number Variation)
Cys-loop	Цистеиновая петля
D1R	Дофаминовый рецептор 1 типа
D2R	Дофаминовый рецептор 2 типа

DAT	Дофаминовый транспортер (Dopamine Transporter)
DHEAS	Дегидроэпиандростерона сульфат
ECD	Внеклеточный домен (Extracellular Domain)
ECNP	Европейский колледж нейропсихофармакологии (European College of Neuropsychopharmacology)
ERAD	Деградация, ассоциированная с эндоплазматическим ретикулумом (Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation)
FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration)
FRET	Ферстеровский резонансный перенос энергии (Förster Resonance Energy Transfer)
GABARAP	Белок, ассоциированный с рецептором ГАМК (GABA Receptor-Associated Protein)
GluN1	Субъединица 1 NMDA-рецептора
GluN2	Субъединица 2 NMDA-рецептора
GlyR	Глициновый рецептор
GRP-78	Глюкозо-регулируемый белок 78 кДа (см. BiP)
ICD	Внутриклеточный домен (Intracellular Domain)
IL-1β, IL-6	Интерлейкины 1 β и 6
IP3	Инозитол-1,4,5-трифосфат
IQR	Интерквартильный размах (Interquartile Range)
IRE1α	Инозитол-требующий фермент 1 α (Inositol-Requiring Enzyme 1 α)
ISO	Изоаллопрегнанолаон (3 β -гидрокси-5 α -прегнан-20-он)
KCC2	K ⁺ -Cl ⁻ котранспортер 2 типа (экструдер)
Ki	Константа ингибирования
Kv	Потенциал-зависимые калиевые каналы
mACh	Мускариновый ацетилхолиновый рецептор

MAM	Митохондриально-ассоциированная мембрана (Mitochondria-Associated Membrane)
mRNA	Матричная рибонуклеиновая кислота
mTOR	Механистическая мишень рапамицина (Mechanistic Target of Rapamycin)
nACh	Никотиновый ацетилхолиновый рецептор
Nav	Потенциал-зависимые натриевые каналы
NE-100	4-метокси-3-(2-фенилэтокси)-N,N-дипропилбензиламин, антагонист Sigma1R
NF-κB	Ядерный фактор каппа-би (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NKCC1	Na ⁺ -K ⁺ -2Cl ⁻ котранспортер 1 типа (симпортер)
NMDA	N-метил-D-аспаратат (тип глутаматных рецепторов)
nNOS	Нейрональная NO-синтаза
NQO1	NAD(P)H-дегидрогеназа (хинон) 1
Nrf2	Фактор транскрипции (Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2)
PAM	Положительный аллостерический модулятор
PERK	Протеинкиназа, подобная PKR, эндоплазматического ретикулума
PIC	Пикротоксин
PKA	Протеинкиназа А
PKC	Протеинкиназа С
PRE-084	2-(4-морфолиноэтил)-1-фенилциклогексан-1-карбоксилат, селективный агонист Sigma1R
PTZ	Пентилентетразол
Q25–Q75	25-й и 75-й процентиля (квартили)
S1RA	E-52862, селективный антагонист Sigma1R
SA4503	Кутамезин, агонист Sigma1R

SD	Стандартное отклонение (Standard Deviation)
S.E.M.	Стандартная ошибка среднего (Standard Error of the Mean)
Sigma1R	Сигма-1 рецептор (шаперон)
Sigma2R	Сигма-2 рецептор
SIGMAR1	Ген сигма-1 рецептора
Sp1	Специфический белок 1 (Specificity Protein 1)
THDOC	Тетрагидродеоксикортикостерон (3 α ,21-дигидрокси-5 α -прегнан-20-он)
TM1–TM4	Трансмембранные сегменты 1–4
TMD	Трансмембранный домен (Transmembrane Domain)
TNF-α	Фактор некроза опухоли альфа
TrkB	Тропомиозин-рецепторная киназа В
TSPO	Транслокаторный белок 18 кДа
VLPO	Вентролатеральное преоптическое ядро
XBP1	Белок, связывающий X-box 1 (X-box Binding Protein 1)
ZAC	Цинк-активируемый ионный канал
АТФ	Аденозинтрифосфат
ГАМК	γ -аминомасляная кислота
ГАМКА	Рецептор γ -аминомасляной кислоты типа А
ГАМКВ	Рецептор γ -аминомасляной кислоты типа В
ГКС	Генерализованные клонические судороги
ГТС	Генерализованные тонические судороги
ДМСО	Диметилсульфоксид
КП	Клонические подергивания
НАМ	Негативный аллостерический модулятор
ОАМ	Отрицательный аллостерический модулятор
ПКЛ	Приподнятый крестообразный лабиринт
ПХ	Тест подвешивания за хвост
ПЭГ 400	Полиэтиленгликоль 400

СИОЗС	Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина
ЦНС	Центральная нервная система
ЭПР	Эндоплазматический ретикулум
m	Среднее значение
md	Медиана

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Середенин С.Б., Воронин М.В. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72. – №. 1. – С. 3-11.
2. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Незнамов Г.Г., и др. Фармакогенетическая концепция анксиоселективного эффекта // Вестник РАМН. – 1998. – Т. 11. – С. 3-9.
3. Середенин С.Б., Яркова М.А., Воронин М.В., и др. Рецепция НЗ диазепама в мозге инбредных животных с различной реакцией на эмоциональный стресс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64. – №. 1. – С. 63-65.
4. Сюняков Т.С., Незнамов Г.Г. Оценка терапевтической эффективности и безопасности селективного анксиолитика афобазола при генерализованном тревожном расстройстве и расстройствах адаптации: результаты многоцентрового рандомизированного сравнительного с диазепамом исследования // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88. – №. 8. – С. 73-86.
5. Воронин М.В., Кадников И.А., Абрамова Е.А. Молекулярные механизмы нейротропного действия афобазола // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84. – №. 2. – С. 15-22.
6. Яркова М.А. Анализ связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМКА рецептора у мышей C57BL/6 и BALB/c при введении анксиолитиков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74. – №. 8. – С. 3-7.
7. Absalom N.L., Lin S.X.N., Liao V.W.Y., et al. GABA_A receptors in epilepsy: elucidating phenotypic divergence through functional analysis of genetic variants // Journal of Neurochemistry. – 2024. – Vol. 168. – №. 12. – P. 3831-3852.

8. Agís-Balboa R.C., Pinna G., Zhubi A., et al. Characterization of brain neurons that express enzymes mediating neurosteroid biosynthesis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 103. – №. 39. – P. 14602–14607.
9. Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M., et al. Sigmar1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 705575.
10. Akaike N., Hattori K., Oomura Y., et al. Bicuculline and picrotoxin block γ -aminobutyric acid-gated Cl^- conductance by different mechanisms // *Experientia*. – 1985. – Vol. 41. – №. 1. – P. 70-71.
11. Akk G., Bracamontes J., Steinbach J.H. Activation of GABAA receptors containing the $\alpha 4$ subunit by GABA and pentobarbital // *The Journal of Physiology*. – 2004. – Vol. 556. – №. 2. – P. 387-399.
12. Akk G., Covey D.F., Evers A.S., et al. The influence of the membrane on neurosteroid actions at GABAA receptors // *Psychoneuroendocrinology*. – 2009. – Vol. 34. – №. Suppl 1. – P. S59–S66.
13. Al-Saif A., Al-Mohanna F., Bohlega S. A mutation in sigma-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis // *Annals of Neurology*. – 2011. – Vol. 70. – №. 6. – P. 913–919.
14. Albertson T.E., Stark L.G., Derlet R.W. Modification of amygdaloid kindling by diazepam in juvenile rats // *Brain Research Developmental Brain Research*. – 1990. – Vol. 51. – №. 2. – P. 249–252.
15. Almeida F.B., Nin M.S., Barros H.M.T. The role of allopregnanolone in depressive-like behaviors: Focus on neurotrophic proteins // *Neurobiology of Stress*. – 2020. – Vol. 12. – P. 100218.
16. Andréen L., Nyberg S., Turkmen S., et al. Sex steroid induced negative mood may be explained by the paradoxical effect mediated by GABAA modulators // *Psychoneuroendocrinology*. – 2009. – Vol. 34. – №. 8. – P. 1121-1132.

17. Andrews P.R., Johnston G.A.R. GABA agonists and antagonists // *Biochemical Pharmacology*. – 1979. – Vol. 28. – №. 18. – P. 2697-2702.
18. Antonoudiou P., Colmers P.L.W., Walton N.L., et al. Allopregnanolone mediates affective switching through modulation of oscillatory states in the basolateral amygdala // *Biological Psychiatry*. – 2022. – Vol. 91. – №. 3. – P. 283-293.
19. Bäckström T., Ekberg K., Hirschberg A.L., et al. A randomized, double-blind study on efficacy and safety of sepranolone in premenstrual dysphoric disorder // *Psychoneuroendocrinology*. – 2021. – Vol. 133. – P. 105426.
20. Bäckström T., Haage D., Löfgren M., et al. Paradoxical effects of GABA-A modulators may explain sex steroid induced negative mood symptoms in some persons // *Neuroscience*. – 2011. – Vol. 191. – P. 46–54.
21. Balasuriya D., Stewart A.P., Crottes D., et al. The sigma-1 receptor binds to the Nav1.5 voltage-gated Na⁺ channel with 4-fold symmetry // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287. – №. 44. – P. 37021–37029.
22. Balasuriya D., Stewart A.P., Edwardson J.M. The σ -1 receptor interacts directly with GluN1 but not GluN2A in the GluN1/GluN2A NMDA receptor // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – Vol. 33. – №. 46. – P. 18219–18224.
23. Barbero-Castillo A., Mateos-Aparicio P., Dalla Porta L., et al. Impact of GABAA and GABAB inhibition on cortical dynamics and perturbational complexity during synchronous and desynchronized states // *Journal of Neuroscience*. – 2021. – Vol. 41. – №. 23. – P. 5029–5044.
24. Barr J.L., Zhao P., Brailoiu G.C., et al. Choline-Sigma-1R as an additional mechanism for potentiation of orexin by cocaine // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – №. 10. – P. 5160.
25. Bastami Z., Soltanpour S., Panahi-Azar V., et al. Solubility of clonazepam and diazepam in binary and ternary mixtures of polyethylene glycols 400 or 600, propylene glycol and water at 298.2 K-experimental data and modeling // *Journal of the Serbian Chemical Society*. – 2014. – Vol. 79. – №. 4. – P. 445-456.

26. Belelli D., Hales T.G., Lambert J.J., et al. GABAA receptors in GtoPdb v. 2023.1 // IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE. – 2023. – Vol. 2023. – №. 1.
27. Belelli D., Lambert J.J. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABAA receptor // Nature Reviews Neuroscience. – 2005. – Vol. 6. – №. 7. – P. 565–575.
28. Belelli D., Peters J.A., Phillips G.D., et al. The immediate and maintained effects of neurosteroids on GABAA receptors // Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research. – 2022. – Vol. 24. – P. 100333.
29. Bernardi G., Marciani M.G., Morocutti C., et al. The action of picrotoxin and bicuculline on rat caudate neurons inhibited by GABA // Brain Research. – 1976. – Vol. 102. – №. 2. – P. 379-384.
30. Bianchi M.T., Song L., Zhang H., Macdonald R.L. Two different mechanisms of disinhibition produced by GABAA receptor mutations linked to epilepsy in humans // Journal of Neuroscience. – 2002. – Vol. 22. – №. 13. – P. 5321–5327.
31. Bina P., Rezvanfard M., Ahmadi S., et al. Anxiolytic-like effects and increase in locomotor activity induced by infusions of NMDA into the ventral hippocampus in rat: interaction with GABAergic system // Basic and Clinical Neuroscience. – 2014. – Vol. 5. – №. 4. – P. 267.
32. Bixo M., Ekberg K., Poromaa I.S., et al. Treatment of premenstrual dysphoric disorder with the GABAA receptor modulating steroid antagonist Sepranolone (UC1010) — A randomized controlled trial // Psychoneuroendocrinology. – 2017. – Vol. 80. – P. 46–55.
33. Blaesse P., Airaksinen M.S., Rivera C., et al. Cation-chloride cotransporters and neuronal function // Neuron. – 2009. – Vol. 61. – №. 6. – P. 820–838.
34. Blazon M., LaCarubba B., Bunda A., et al. N-type calcium channels control GABAergic transmission in brain areas related to fear and anxiety // OBM Neurobiology. – 2021. – Vol. 5. – №. 1. – P. 10.21926/obm.neurobiol.2101083.

35. Bonnert T.P., McKernan R.M., Farrar S., et al. θ , a novel γ -aminobutyric acid type A receptor subunit // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1999. – Vol. 96. – №. 17. – P. 9891–9896.
36. Bown C.D., Wang J.F., Chen B., et al. Regulation of ER stress proteins by valproate: therapeutic implications // *Bipolar Disorders*. – 2002. – Vol. 4. – №. 2. – P. 145-151.
37. Bowser D.N., Wagner D.A., Czajkowski C., et al. Altered kinetics and benzodiazepine sensitivity of a GABAA receptor subunit mutation [γ 2(R43Q)] found in human epilepsy // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 99. – №. 23. – P. 15170-15175.
38. Boyce-Rustay J.M., Holmes A. Genetic inactivation of the NMDA receptor NR2A subunit has anxiolytic- and antidepressant-like effects in mice // *Neuropsychopharmacology*. – 2006. – Vol. 31. – №. 11. – P. 2405–2414.
39. Brodie M.J., Kwan P. Current position of phenobarbital in epilepsy and its future // *Epilepsia*. – 2012. – Vol. 53. – №. Suppl 8. – P. 40–46.
40. Brune S., Schepmann D., Klempnauer K.H., et al. The sigma enigma: in vitro/in silico site-directed mutagenesis studies unveil σ 1 receptor ligand binding // *Biochemistry*. – 2014. – Vol. 53. – №. 18. – P. 2993–3003.
41. Bryson A., Reid C., Petrou S. Fundamental neurochemistry review: GABAA receptor neurotransmission and epilepsy: principles, disease mechanisms and pharmacotherapy // *Journal of Neurochemistry*. – 2023. – Vol. 165. – №. 1. – P. 6-28.
42. Buzsáki G., Wang X.-J. Mechanisms of gamma oscillations // *Annual Review of Neuroscience*. – 2012. – Vol. 35. – P. 203–225.
43. Callachan H., Cottrell G.A., Hather N.Y., et al. Modulation of the GABAA receptor by progesterone metabolites // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. – 1987. – Vol. 231. – №. 1264. – P. 359–369.

44. Calzetta L., Page C., Matera M.G., et al. Drug-drug interactions and synergy: from pharmacological models to clinical application // *Pharmacological Reviews*. – 2024. – Vol. 76. – №. 6. – P. 1159-1220.
45. Can A., Dao D.T., Terrillion C.E., et al. The tail suspension test // *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. – 2012. – №. 59. – P. 3769.
46. Carver C.M., Reddy D.S. Neurosteroid structure-activity relationships for functional activation of extrasynaptic δ GABAA receptors // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2016. – Vol. 357. – №. 1. – P. 188-204.
47. Carvill G.L., Weckhuysen S., McMahon J.M., et al. GABRA1 and STXBP1: novel genetic causes of Dravet syndrome // *Neurology*. – 2014. – Vol. 82. – №. 14. – P. 1245-1253.
48. Chekina K.S., Yarkova M.A., Seredenin S.B. Benzodiazepine reception in C57BL/6 and BALB/c mice depending on the type of stress factor // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2009. – Vol. 148. – №. 4. – P. 606.
49. Chen S., Gao L., Li X., et al. Allopregnanolone in mood disorders: Mechanism and therapeutic development // *Pharmacological Research*. – 2021. – Vol. 169. – P. 105682.
50. Chen S., Xu D., Fan L., et al. Roles of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) in epilepsy // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2022. – Vol. 14. – P. 797253.
51. Chen X., Wang Y.J., Mu T.W. Proteostasis regulation of GABAA receptors in neuronal function and disease // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2025. – Vol. 186. – P. 117992.
52. Chen X., Zhang C., Guo Y., et al. Chronic stimulation of the sigma-1 receptor ameliorates ventricular ionic and structural remodeling in a rodent model of depression // *Life Sciences*. – 2020. – Vol. 257. – P. 118047.
53. Chintala S.M., Tateiwa H., Qian M., et al. Direct measurements of neurosteroid binding to specific sites on GABAA receptors // *British Journal of Pharmacology*. – 2024. – Vol. 181. – №. 21. – P. 4229–4244.

54. Choi J.G., Choi S.R., Kang D.W., et al. Sigma-1 receptor increases intracellular calcium in cultured astrocytes and contributes to mechanical allodynia in a model of neuropathic pain // *Brain Research Bulletin*. – 2022. – Vol. 178. – P. 69-81.
55. Christ M.G., Huesmann H., Nagel H., et al. Sigma-1 receptor activation induces autophagy and increases proteostasis capacity in vitro and in vivo // *Cells*. – 2019. – Vol. 8. – №. 3. – P. 211.
56. Claassen J., Hirsch L.J., Emerson R.G., et al. Treatment of refractory status epilepticus with pentobarbital, propofol, or midazolam: a systematic review // *Epilepsia*. – 2002. – Vol. 43. – №. 2. – P. 146–153.
57. Cobos E.J., Entrena J.M., Nieto F.R., et al. Pharmacology and therapeutic potential of sigma1 receptor ligands // *Current Neuropharmacology*. – 2008. – Vol. 6. – №. 4. – P. 344–366.
58. Connolly C.N., Krishek B.J., McDonald B.J., et al. Assembly and cell surface expression of heteromeric and homomeric γ -aminobutyric acid type A receptors // *Journal of Biological Chemistry*. – 1996. – Vol. 271. – №. 1. – P. 89-96.
59. Copping N.A., Adhikar A., Petkova S.P., et al. Genetic backgrounds have unique seizure response profiles and behavioral outcomes following convulsant administration // *Epilepsy & Behavior*. – 2019. – Vol. 101. – P. 106547.
60. Cosentino G., Dichiara M., Costanzo G., et al. Design and Synthesis of Tetrahydropyrrolo[3,4-c]Pyrazole Sigma-1 Receptor Ligands // *ChemMedChem*. – 2025. – Vol. 20. – №. 9. – P. e202401015.
61. Cossette P., Liu L., Brisebois K., et al. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy // *Nature Genetics*. – 2002. – Vol. 31. – №. 2. – P. 184–189.
62. Couly S., Yasui Y., Su T.P. SIGMAR1 confers innate resilience against neurodegeneration // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – №. 9. – P. 7767.

63. Covey D.F., Evers A.S., Mennerick S., et al. Recent developments in structure-activity relationships for steroid modulators of GABAA receptors // *Brain Research Reviews*. – 2001. – Vol. 37. – №. 1–3. – P. 91–97.
64. Cowgill J., Fan C., Haloï N., et al. Structure and dynamics of differential ligand binding in the human ρ -type GABAA receptor // *Neuron*. – 2023. – Vol. 111. – №. 21. – P. 3450–3464. e5.
65. Crestani F., Keist R., Fritschy J.-M., et al. Trace fear conditioning involves hippocampal $\alpha 5$ GABAA receptors // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 99. – №. 13. – P. 8980–8985.
66. Crestani F., Löw K., Keist R., et al. Molecular targets for the myorelaxant action of diazepam // *Molecular Pharmacology*. – 2001. – Vol. 59. – №. 3. – P. 442–445.
67. Curtis D.R., Duggan A.W., Felix D., et al. GABA, bicuculline and central inhibition // *Nature*. – 1970. – Vol. 226. – №. 5252. – P. 1222–1224.
68. Davies P.A., Hanna M.C., Hales T.G., et al. Insensitivity to anaesthetic agents conferred by a class of GABAA receptor subunit // *Nature*. – 1997. – Vol. 385. – №. 6619. – P. 820–823.
69. Davies P.A., Kirkness E.F., Hales T.G. Modulation by general anaesthetics of rat GABAA receptors comprised of $\alpha 1\beta 3$ and $\beta 3$ subunits expressed in human embryonic kidney 293 cells // *British Journal of Pharmacology*. – 1997. – Vol. 120. – №. 5. – P. 899–909.
70. De Koninck Y., Mody I. The effects of raising intracellular calcium on synaptic GABAA receptor-channels // *Neuropharmacology*. – 1996. – Vol. 35. – №. 9-10. – P. 1365-1374.
71. Deligiannidis K.M., Meltzer-Brody S., Maximós B., et al. Zuranolone for the treatment of postpartum depression // *American Journal of Psychiatry*. – 2023. – Vol. 180. – №. 9. – P. 668–675.
72. DeLorey T.M., Handforth A., Anagnostaras S.G., et al. Mice lacking the $\beta 3$ subunit of the GABAA receptor have the epilepsy phenotype and many of

the behavioral characteristics of Angelman syndrome // *Journal of Neuroscience*. – 1998. – Vol. 18. – №. 20. – P. 8505-8514.

73. Delorey T.M., Olsen R.W. GABA and epilepsy: basic concepts from preclinical research // *Epilepsia*. – 1992. – Vol. 33. – №. Suppl 5. – P. S3–S12.

74. DeSalvo M.N., Schridde U., Mishra A.M., et al. Focal BOLD fMRI changes in bicuculline-induced tonic-clonic seizures in the rat // *Neuroimage*. – 2010. – Vol. 50. – №. 3. – P. 902-909.

75. Dharavath R.N., Pina-Leblanc C., Tang V.M., et al. GABAergic signaling in alcohol use disorder and withdrawal: pathological involvement and therapeutic potential // *Frontiers in Neural Circuits*. – 2023. – Vol. 17. – P. 1218737.

76. Dhir A. Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy // *Current Protocols in Neuroscience*. – 2012. – Vol. 58. – №. 1. – P. 9.37.1-9.37.12.

77. Dhir A., Kulkarni S.K. Involvement of sigma (σ 1) receptors in modulating the anti-depressant effect of neurosteroids (dehydroepiandrosterone or pregnenolone) in mouse tail-suspension test // *Journal of Psychopharmacology*. – 2008. – Vol. 22. – №. 6. – P. 691-696.

78. Di T., Zhang S., Hong J., et al. Hyperactivity of hypothalamic-pituitary-adrenal axis due to dysfunction of the hypothalamic glucocorticoid receptor in sigma-1 receptor knockout mice // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2017. – Vol. 10. – P. 287.

79. Di X.J., Han D.Y., Wang Y.J., et al. SAHA enhances proteostasis of epilepsy-associated α 1(A322D) β 2 γ 2 GABAA receptors // *Chemistry & Biology*. – 2013. – Vol. 20. – №. 12. – P. 1456-1468.

80. Di X.J., Wang Y.J., Cotter E., et al. Proteostasis regulators restore function of epilepsy-associated GABAA receptors // *Cell Chemical Biology*. – 2021. – Vol. 28. – №. 1. – P. 46-59. e7.

81. Diemel S.J., Lewis D.A. Alterations in cortical interneurons and cognitive function in schizophrenia // *Neurobiology of Disease*. – 2019. – Vol. 131. – P. 104208.

82. Do Rego J.L., Seong J.Y., Burel D., et al. Neurosteroid biosynthesis: enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides // *Frontiers in Neuroendocrinology*. – 2009. – Vol. 30. – №. 3. – P. 259–301.
83. Edinoff A.N., Nix C.A., Hollier J., et al. Benzodiazepines: uses, dangers, and clinical considerations // *Neurology International*. – 2021. – Vol. 13. – №. 4. – P. 594–607.
84. Elflin G.S., Branda E.M., Babich M., et al. Antagonism by NOS inhibition of the behavioral effects of benzodiazepine and GABAA receptor agonists in the mouse elevated plus-maze // *Neuropsychopharmacology*. – 2004. – Vol. 29. – №. 8. – P. 1419-1425.
85. Engin E., Benham R.S., Rudolph U. An emerging circuit pharmacology of GABAA receptors // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2018. – Vol. 39. – №. 8. – P. 710-732.
86. Engin E., Smith K.S., Gao Y., et al. Modulation of anxiety and fear via distinct intrahippocampal circuits // *eLife*. – 2016. – Vol. 5. – P. e14120.
87. Epperson C.N., Rubinow D.R., Meltzer-Brody S., et al. Effect of brexanolone on depressive symptoms, anxiety, and insomnia in women with postpartum depression: Pooled analyses from 3 double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trials in the HUMMINGBIRD clinical program // *Journal of Affective Disorders*. – 2023. – Vol. 320. – P. 353–359.
88. Eskandari K., Bélanger S.M., Lachance V., et al. Repurposing Sigma-1 Receptor-Targeting Drugs for Therapeutic Advances in Neurodegenerative Disorders // *Pharmaceuticals*. – 2025. – Vol. 18. – №. 5. – P. 700.
89. Fariello R.G., McArthur R.A., Bonsignori A., et al. Preclinical evaluation of PNU-151774E as a novel anticonvulsant // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1998. – Vol. 285. – №. 2. – P. 397-403.
90. Fatemi S.H., Sary J.M., Earle J.A., et al. GABAergic dysfunction in schizophrenia and mood disorders as reflected by decreased levels of glutamic acid

decarboxylase 65 and 67 kDa and Reelin proteins in cerebellum // *Schizophrenia Research*. – 2005. – Vol. 72. – №. 2-3. – P. 109-122.

91. Feng H.J., Macdonald R.L. Barbiturates require the N terminus and first transmembrane domain of the δ subunit for enhancement of $\alpha 1\beta 3\delta$ GABAA receptor currents // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Vol. 285. – №. 31. – P. 23614-23621.

92. Feng Y., Chen X.B., Zhang Y.L., et al. Propofol decreased the etomidate-induced myoclonus in adult patients: a meta-analysis and systematic review // *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. – 2023. – Vol. 27. – №. 4. – P. 1322–1335.

93. File S.E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse // *Behavioural Brain Research*. – 2001. – Vol. 125. – №. 1-2. – P. 151-157.

94. Frampton J.E. Fenfluramine: a review in Dravet and Lennox-Gastaut syndromes // *Drugs*. – 2023. – Vol. 83. – №. 10. – P. 923–934.

95. Fritschy J.M., Panzanelli P. Extrasynaptic GABAA receptors: subunit composition, distribution, and regulation // *Extrasynaptic GABAA Receptors*. – New York, NY: Springer New York, 2014. – P. 15-32.

96. Frugier G., Coussen F., Giraud M.F., et al. A $\gamma 2(R43Q)$ mutation, linked to epilepsy in humans, alters GABAA receptor assembly and modifies subunit composition on the cell surface // *Journal of Biological Chemistry*. – 2007. – Vol. 282. – №. 6. – P. 3819-3828.

97. Fu C., Xiao Y., Zhou X., et al. Insight into binding of endogenous neurosteroid ligands to the sigma-1 receptor // *Nature Communications*. – 2024. – Vol. 15. – №. 1. – P. 5619.

98. Fu Y.L., Han D.Y., Wang Y.J., et al. Remodeling the endoplasmic reticulum proteostasis network restores proteostasis of pathogenic GABAA receptors // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 13. – №. 11. – P. e0207948.

99. Fujimoto M., Hayashi T., Urfer R., et al. Sigma-1 receptor chaperones regulate the secretion of brain-derived neurotrophic factor // *Synapse*. – 2012. – Vol. 66. – №. 7. – P. 630-639.
100. Gao M., Zhang H., Sun Y., et al. Gabrb2 knock-out mice exhibit double-directed PMDD-like symptoms: GABAAR subunits, neurotransmitter metabolism disruption, and allopregnanolone binding // *Aging (Albany NY)*. – 2022. – Vol. 14. – №. 20. – P. 8437.
101. Garcia-Gutierrez M.S., Manzanares J. The cannabinoid CB1 receptor is involved in the anxiolytic, sedative and amnesic actions of benzodiazepines // *Journal of Psychopharmacology*. – 2010. – Vol. 24. – №. 5. – P. 757–765.
102. Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission // *European Journal of Neuroscience*. – 2008. – Vol. 27. – №. 11. – P. 2783-2802.
103. Germann A.L., Pierce S.R., Tateiwa H., et al. Intrasubunit and intersubunit steroid binding sites independently and additively mediate $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABAA receptor potentiation by the endogenous neurosteroid allopregnanolone // *Molecular Pharmacology*. – 2021. – Vol. 100. – №. 1. – P. 19–31.
104. Ghit A., Assal D., Al-Shami A.S., et al. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 19. – №. 1. – P. 123.
105. Girdler S.S., Klatzkin R. Neurosteroids in the context of stress: implications for depressive disorders // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2007. – Vol. 116. – №. 1. – P. 125-139.
106. Glauser T., Shinnar S., Gloss D., et al. Evidence-based guideline: treatment of convulsive status epilepticus in children and adults: report of the Guideline Committee of the American Epilepsy Society // *Epilepsy Currents*. – 2016. – Vol. 16. – №. 1. – P. 48–61.
107. Gogvadze N., Zhuravliova E., Morin D., et al. Sigma-1 receptor agonists induce oxidative stress in mitochondria and enhance complex I activity in physiological condition but protect against pathological oxidative stress // *Neurotoxicity Research*. – 2019. – Vol. 35. – №. 1. – P. 1–18.

108. Gonda X., Tarazi F.I., Dome P. The emergence of antidepressant drugs targeting GABAA receptors: A concise review // *Biochemical Pharmacology*. – 2024. – Vol. 228. – P. 116481.

109. Granados-Fuentes D., Lambert P., Simon T., et al. GABAA receptor subunit composition regulates circadian rhythms in rest–wake and synchrony among cells in the suprachiasmatic nucleus // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2024. – Vol. 121. – №. 31. – P. e2400339121.

110. Gravielle M.C. Regulation of GABAA receptors induced by the activation of L-type voltage-gated calcium channels // *Membranes*. – 2021. – Vol. 11. – №. 7. – P. 486.

111. Greenfield E.A. Sampling and preparation of mouse and rat serum // *Cold Spring Harbor Protocols*. – 2017. – Vol. 2017. – №. 11. – P. pdb.prot100271.

112. Greenfield Jr L.J. Molecular mechanisms of antiseizure drug activity at GABAA receptors // *Seizure*. – 2013. – Vol. 22. – №. 8. – P. 589–600.

113. Griesmaier E., Posod A., Gross M., et al. Neuroprotective effects of the sigma-1 receptor ligand PRE-084 against excitotoxic perinatal brain injury in newborn mice // *Experimental Neurology*. – 2012. – Vol. 237. – №. 2. – P. 388–395.

114. Griffin C.E., Kaye A.M., Bueno F.R., et al. Benzodiazepine pharmacology and central nervous system–mediated effects // *Ochsner Journal*. – 2013. – Vol. 13. – №. 2. – P. 214–223.

115. Gunduz-Bruce H., Silber C., Kaber I., et al. Trial of SAGE-217 in patients with major depressive disorder // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 381. – №. 10. – P. 903–911.

116. Guo L., Chen Y., Zhao R., et al. Allosteric modulation of sigma-1 receptors elicits anti-seizure activities // *British Journal of Pharmacology*. – 2015. – Vol. 172. – №. 16. – P. 4052–4065.

117. Guo L., Liu S., Lv N., et al. Fluvoxamine Attenuates Blood–Brain Barrier Disruption in Drug-Resistance Epilepsy and inhibits Ferroptosis via the

Sigma-1 Receptor-TAMM41 signaling in bEnd.3 cells // *Molecular Neurobiology*. – 2025. – Vol. 63. – №. 1. – P. 120.

118. Ha Y., Dun Y., Thangaraju M., et al. Sigma receptor 1 modulates endoplasmic reticulum stress in retinal neurons // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2011. – Vol. 52. – №. 1. – P. 527-540.

119. Hafycz J.M., Strus E., Naidoo N. Reducing ER stress with chaperone therapy reverses sleep fragmentation and cognitive decline in aged mice // *Aging Cell*. – 2022. – Vol. 21. – №. 6. – P. e13598.

120. Hales T.G., Tang H., Bollan K.A., et al. The epilepsy mutation, $\gamma 2$ (R43Q) disrupts a highly conserved inter-subunit contact site, perturbing the biogenesis of GABAA receptors // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2005. – Vol. 29. – №. 1. – P. 120–127.

121. Haller J., Varga B., Ledent C., et al. CB1 cannabinoid receptors mediate anxiolytic effects: convergent genetic and pharmacological evidence with CB1-specific agents // *Behavioural Pharmacology*. – 2004. – Vol. 15. – №. 4. – P. 299–304.

122. Haq U.U., Majeed N., Kumari N., et al. Phenobarbital versus valproate for generalized convulsive status epilepticus in adults. An updated systematic review and meta-analysis // *Epilepsy Research*. – 2025. – P. 107571.

123. Hasebe S., Ago Y., Watabe Y., et al. Anti-anhedonic effect of selective serotonin reuptake inhibitors with affinity for sigma-1 receptors in picrotoxin-treated mice // *British Journal of Pharmacology*. – 2017. – Vol. 174. – №. 4. – P. 314-327.

124. Hashimoto K. Sigma-1 receptor chaperone and brain-derived neurotrophic factor: emerging links between cardiovascular disease and depression // *Progress in Neurobiology*. – 2013. – Vol. 100. – P. 15–29.

125. Hausrat T.J., Muhia M., Gerrow K., et al. Radixin regulates synaptic GABAA receptor density and is essential for reversal learning and short-term memory // *Nature Communications*. – 2015. – Vol. 6. – №. 1. – P. 6872.

126. Hayashi T. Conversion of psychological stress into cellular stress response: Roles of the sigma-1 receptor in the process // *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. – 2015. – Vol. 69. – №. 4. – P. 179-191.
127. Hayashi T., Su T.P. Cholesterol at the endoplasmic reticulum: roles of the sigma-1 receptor chaperone and implications thereof in human diseases // *Subcellular Biochemistry*. – 2010. – Vol. 51. – P. 381–398.
128. Hayashi T., Su T.P. Regulating ankyrin dynamics: Roles of sigma-1 receptors // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2001. – Vol. 98. – №. 2. – P. 491-496.
129. Hayashi T., Su T.P. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca²⁺ signaling and cell survival // *Cell*. – 2007. – Vol. 131. – №. 3. – P. 596–610.
130. Hayashi T., Su T.P. Sigma-1 receptors at galactosylceramide-enriched lipid microdomains regulate oligodendrocyte differentiation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101. – №. 41. – P. 14949-14954.
131. Hayashi T., Su T.P. The potential role of sigma-1 receptors in lipid transport and lipid raft reconstitution in the brain: implication for drug abuse // *Life Sciences*. – 2005. – Vol. 77. – №. 14. – P. 1612-1624.
132. Hayashi T., Tsai S.Y., Mori T., et al. Targeting ligand-operated chaperone sigma-1 receptors in the treatment of neuropsychiatric disorders // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2011. – Vol. 15. – №. 5. – P. 557-577.
133. Heaulme M., Chambon J.P., Leyris R., et al. Biochemical characterization of the interaction of three pyridazinyl-GABA derivatives with the GABAA receptor site // *Brain Research*. – 1986. – Vol. 384. – №. 2. – P. 224–231.
134. Hedblom E., Kirkness E.F. A novel class of GABAA receptor subunit in tissues of the reproductive system // *Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – Vol. 272. – №. 24. – P. 15346–15350.
135. Hedrich H.J., Bullock G.R. *The laboratory mouse*. – Academic Press, 2004.

136. Hedström H., Bixo M., Nyberg S., et al. Studies of pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of isoallopregnanolone in healthy women // *Psychopharmacology*. – 2009. – Vol. 203. – №. 1. – P. 85–98.
137. Hernandez C.C., Macdonald R.L. A structural look at GABAA receptor mutations linked to epilepsy syndromes // *Brain Research*. – 2019. – Vol. 1714. – P. 234-247.
138. Hernandez C.C., Shen Y., Hu N., et al. GABRG2 Variants associated with febrile seizures // *Biomolecules*. – 2023. – Vol. 13. – №. 3. – P. 414.
139. Hölter S.M., Garrett L., Einicke J., et al. Assessing cognition in mice // *Current Protocols in Mouse Biology*. – 2015. – Vol. 5. – №. 4. – P. 331-358.
140. Hong W., Nuwayhid S.J., Werling L.L. Modulation of bradykinin-induced calcium changes in SH-SY5Y cells by neurosteroids and sigma receptor ligands via a shared mechanism // *Synapse*. – 2004. – Vol. 54. – №. 2. – P. 102-110.
141. Hörtnagl H., Tasan R.O., Wieselthaler A., et al. Patterns of mRNA and protein expression for 12 GABAA receptor subunits in the mouse brain // *Neuroscience*. – 2013. – Vol. 236. – P. 345–372.
142. Hoyberghs J., Bars C., Ayuso M., et al. DMSO concentrations up to 1% are safe to be used in the zebrafish embryo developmental toxicity assay // *Frontiers in Toxicology*. – 2021. – Vol. 3. – P. 804033.
143. Huang R.Q., Bell-Horner C.L., Dibas M.I., et al. Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant γ -aminobutyric acid type A (GABAA) receptors: mechanism and site of action // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2001. – Vol. 298. – №. 3. – P. 986–995.
144. Huang Y., Zheng L., Halliday G., et al. Genetic polymorphisms in sigma-1 receptor and apolipoprotein E interact to influence the severity of Alzheimer's disease // *Current Alzheimer Research*. – 2011. – Vol. 8. – №. 7. – P. 765–770.
145. Hunkeler W., Möhler H., Pieri L., et al. Selective antagonists of benzodiazepines // *Nature*. – 1981. – Vol. 290. – №. 5806. – P. 514–516.

146. Institute of Laboratory Animal Resources (US). Committee on Care, Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals. – US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, 1986. – №. 86.

147. Ishima T., Fujita Y., Hashimoto K. Interaction of new antidepressants with sigma-1 receptor chaperones and their potentiation of neurite outgrowth in PC12 cells // *European Journal of Pharmacology*. – 2014. – Vol. 727. – P. 167-173.

148. Jayakar S.S., Zhou X., Chiara D.C., et al. Identifying drugs that bind selectively to intersubunit general anesthetic sites in the $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ GABAAR transmembrane domain // *Molecular Pharmacology*. – 2019. – Vol. 95. – №. 6. – P. 615–628.

149. Johansson I.M., Birzniece V., Lindblad C., et al. Allopregnanolone inhibits learning in the Morris water maze // *Brain Research*. – 2002. – Vol. 934. – №. 2. – P. 125-131.

150. Johansson M., Strömberg J., Ragagnin G., et al. GABAA receptor modulating steroid antagonists (GAMSA) are functional in vivo // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. – 2016. – Vol. 160. – P. 98–105.

151. Johnston G.A.R. Advantages of an antagonist: bicuculline and other GABA antagonists // *British Journal of Pharmacology*. – 2013. – Vol. 169. – №. 2. – P. 328-336.

152. Jones-Davis D.M., Macdonald R.L. GABA(A) receptor function and pharmacology in epilepsy and status epilepticus // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2003. – Vol. 3. – №. 1. – P. 12–18.

153. Joshi S., Keith K.J., Ilyas A., et al. GABAA receptor membrane insertion rates are specified by their subunit composition // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2013. – Vol. 56. – P. 201-211.

154. Kadner S.S., Katz J., Finlay T.H. Esterase-1: developmental expression in the mouse and distribution of related proteins in other species // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1992. – Vol. 296. – №. 2. – P. 435-441.

155. Kaila K., Price T.J., Payne J.A., et al. Cation-chloride cotransporters in neuronal development, plasticity and disease // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2014. – Vol. 15. – №. 10. – P. 637–654.
156. Kamei H., Kameyama T., Nabeshima T. (+)-SKF-10,047 and dextromethorphan ameliorate conditioned fear stress through the activation of phenytoin-regulated $\sigma 1$ sites // *European Journal of Pharmacology*. – 1996. – Vol. 299. – №. 1-3. – P. 21-28.
157. Kamei H., Kameyama T., Nabeshima T. (+)-SKF-10,047 and dextromethorphan ameliorate conditioned fear stress via dopaminergic systems linked to phenytoin-regulated $\sigma 1$ sites // *European Journal of Pharmacology*. – 1996. – Vol. 309. – №. 2. – P. 149-158.
158. Kamei H., Kameyama T., Nabeshima T. SKF-10,047 reverses stress-induced motor suppression: interaction with dopaminergic system // *European Journal of Pharmacology*. – 1994. – Vol. 260. – №. 1. – P. 39-46.
159. Kamei H., Noda Y., Kameyama T., et al. Role of (+)-SKF-10,047-sensitive sub-population of $\sigma 1$ receptors in amelioration of conditioned fear stress in rats: association with mesolimbic dopaminergic systems // *European Journal of Pharmacology*. – 1997. – Vol. 319. – №. 2-3. – P. 165-172.
160. Kaminski R.M., Livingood M.R., Rogawski M.A. Allopregnanolone analogs that positively modulate GABAA receptors protect against partial seizures induced by 6-Hz electrical stimulation in mice // *Epilepsia*. – 2004. – Vol. 45. – №. 7. – P. 864–867.
161. Kang J.Q., Macdonald R.L. The GABAA receptor $\gamma 2$ subunit R43Q mutation linked to childhood absence epilepsy and febrile seizures causes retention of $\alpha 1\beta 2\gamma 2S$ receptors in the endoplasmic reticulum // *Journal of Neuroscience*. – 2004. – Vol. 24. – №. 40. – P. 8672–8677.
162. Kasaragod V.B., Mortensen M., Hardwick S.W., et al. Mechanisms of inhibition and activation of extrasynaptic $\alpha\beta$ GABAA receptors // *Nature*. – 2022. – Vol. 602. – №. 7897. – P. 529–533.

163. Kelley S.P., Alan J.K., O'Buckley T.K., et al. Antagonism of neurosteroid modulation of native gamma-aminobutyric acid receptors by (3alpha,5alpha)-17-phenylandrosterone-3-ol // *European Journal of Pharmacology*. – 2007. – Vol. 572. – №. 2–3. – P. 94–101.

164. Keshavarz M., Yekzaman B. Amelioration of pentylenetetrazole-induced seizures by modulators of sigma, N-Methyl-D-Aspartate, and ryanodine receptors in mice // *Iranian Journal of Medical Sciences*. – 2018. – Vol. 43. – №. 2. – P. 195.

165. Khisti R.T., Chopde C.T. Serotonergic agents modulate antidepressant-like effect of the neurosteroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one in mice // *Brain Research*. – 2000. – Vol. 865. – №. 2. – P. 291-300.

166. Khisti R.T., Chopde C.T., Jain S.P. Antidepressant-like effect of the neurosteroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one in mice forced swim test // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2000. – Vol. 67. – №. 1. – P. 137-143.

167. Kienitz R., Kay L., Beuchat I., et al. Benzodiazepines in the management of seizures and status epilepticus: a review of routes of delivery, pharmacokinetics, efficacy, and tolerability // *CNS Drugs*. – 2022. – Vol. 36. – №. 9. – P. 951–975.

168. Kim F.J., Kovalyshyn I., Burgman M., et al. σ 1 receptor modulation of G-protein-coupled receptor signaling: potentiation of opioid transduction independent from receptor binding // *Molecular Pharmacology*. – 2010. – Vol. 77. – №. 4. – P. 695–703.

169. Kim H.C., Bing G., Jhoo W.K., et al. Metabolism to dextrorphan is not essential for dextromethorphan's anticonvulsant activity against kainate in mice // *Life Sciences*. – 2003. – Vol. 72. – №. 7. – P. 769-783.

170. Kim J.J., Gharpure A., Teng J., et al. Shared structural mechanisms of general anaesthetics and benzodiazepines // *Nature*. – 2020. – Vol. 585. – №. 7824. – P. 303–308.

171. Kim J.J., Hibbs R.E. Direct structural insights into GABAA receptor pharmacology // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2021. – Vol. 46. – №. 6. – P. 502–517.
172. Kittler J.T., Moss S.J. Modulation of GABAA receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition // *Current Opinion in Neurobiology*. – 2003. – Vol. 13. – №. 3. – P. 341–347.
173. Kneussel M., Loebrich S. Trafficking and synaptic anchoring of ionotropic inhibitory neurotransmitter receptors // *Biology of the Cell*. – 2007. – Vol. 99. – №. 6. – P. 297–309.
174. Komada M., Takao K., Miyakawa T. Elevated plus maze for mice // *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. – 2008. – №. 22. – P. 1088.
175. Kopanchuk S., Vavers E., Veiksina S., et al. Intracellular dynamics of the Sigma-1 receptor observed with super-resolution imaging microscopy // *PLoS One*. – 2022. – Vol. 17. – №. 5. – P. e0268563.
176. Kopp M.C., Larburu N., Durairaj V., et al. UPR proteins IRE1 and PERK switch BiP from chaperone to ER stress sensor // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2019. – Vol. 26. – №. 11. – P. 1053-1062.
177. Kourrich S., Su T.P., Fujimoto M., et al. The sigma-1 receptor: roles in neuronal plasticity and disease // *Trends in Neurosciences*. – 2012. – Vol. 35. – №. 12. – P. 762–771.
178. Krebs J., Agellon L.B., Michalak M. Ca²⁺ homeostasis and endoplasmic reticulum (ER) stress: An integrated view of calcium signaling // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2015. – Vol. 460. – №. 1. – P. 114-121.
179. Krishek B.J., Moss S.J., Smart T.G. Homomeric $\beta 1$ γ -aminobutyric acid A receptor-ion channels: evaluation of pharmacological and physiological properties // *Molecular Pharmacology*. – 1996. – Vol. 49. – №. 3. – P. 494–504.
180. Kulkarni S.K., Dhir A. σ -1 receptors in major depression and anxiety // *Expert Review of Neurotherapeutics*. – 2009. – Vol. 9. – №. 7. – P. 1021–1034.

181. Kurata K., Takebayashi M., Morinobu S., et al. β -estradiol, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulfate protect against N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons by different mechanisms // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2004. – Vol. 311. – №. 1. – P. 237-245.
182. Kwan P., Brodie M.J. Phenobarbital for the treatment of epilepsy in the 21st century: a critical review // *Epilepsia*. – 2004. – Vol. 45. – №. 9. – P. 1141–1149.
183. Laham B.J., Murthy S.S., Hanani M., et al. The estrous cycle modulates early-life adversity effects on mouse avoidance behavior through progesterone signaling // *Nature Communications*. – 2022. – Vol. 13. – №. 1. – P. 7537.
184. Laurini E., Marson D., Fermeglia M., et al. 3D homology model of sigma1 receptor // *Sigma Proteins: Evolution of the Concept of Sigma Receptors*. – 2017. – P. 27–50.
185. Laverty D., Thomas P., Field M., et al. Crystal structures of a GABAA-receptor chimera reveal new endogenous neurosteroid-binding sites // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2017. – Vol. 24. – №. 11. – P. 977–985.
186. Legesse D.H., Fan C., Teng J., et al. Structural insights into opposing actions of neurosteroids on GABAA receptors // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – №. 1. – P. 5091.
187. Leidenheimer N.J., Whiting P.J., Harris R.A. Activation of calcium-phospholipid-dependent protein kinase enhances benzodiazepine and barbiturate potentiation of the GABAA receptor // *Journal of Neurochemistry*. – 1993. – Vol. 60. – №. 5. – P. 1972-1975.
188. Lever J.R., Gustafson J.L., Xu R., et al. σ 1 and σ 2 receptor binding affinity and selectivity of SA4503 and fluoroethyl SA4503 // *Synapse*. – 2006. – Vol. 59. – №. 6. – P. 350-358.

189. Lippa A.S., Klepner C.A., Yunger L., et al. Relationship between benzodiazepine receptors and experimental anxiety in rats // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1978. – Vol. 9. – №. 6. – P. 853-856.
190. Liu Q., Guo Q., Fang L.P., et al. Specific detection and deletion of the sigma-1 receptor widely expressed in neurons and glial cells in vivo // *Journal of Neurochemistry*. – 2023. – Vol. 164. – №. 6. – P. 764–785.
191. Löscher W. Animal models of seizures and epilepsy: past, present, and future role for the discovery of antiseizure drugs // *Neurochemical Research*. – 2017. – Vol. 42. – №. 7. – P. 1873–1888.
192. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs // *Seizure*. – 2011. – Vol. 20. – №. 5. – P. 359–368.
193. Löscher W., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. IV. Protective indices // *Epilepsy Research*. – 1991. – Vol. 9. – №. 1. – P. 1-10.
194. Löscher W., Rogawski M.A. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates // *Epilepsia*. – 2012. – Vol. 53. – №. Suppl 8. – P. 12–25.
195. Low K., Crestani F., Keist R., et al. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety // *Science*. – 2000. – Vol. 290. – №. 5489. – P. 131–134.
196. Lu K.T., Gean P.W. Endogenous serotonin inhibits epileptiform activity in rat hippocampal CA1 neurons via 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor activation // *Neuroscience*. – 1998. – Vol. 86. – №. 3. – P. 729-737.
197. Luscher B., Fuchs T., Kilpatrick C.L. GABA_A receptor trafficking-mediated plasticity of inhibitory synapses // *Neuron*. – 2011. – Vol. 70. – №. 3. – P. 385–409.
198. Luty A.A., Kwok J.B., Dobson-Stone C., et al. Sigma nonopioid intracellular receptor 1 mutations cause frontotemporal lobar degeneration-motor neuron disease // *Annals of Neurology*. – 2010. – Vol. 68. – №. 5. – P. 639–649.

199. Ma Y., Ma H., Eun J.S., et al. Methanol extract of *Longanae Arillus* augments pentobarbital-induced sleep behaviors through the modification of GABAergic systems // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2009. – Vol. 122. – №. 2. – P. 245-250.
200. Macdonald R.L., McLean M.J. Anticonvulsant drugs: mechanisms of action // *Advances in Neurology*. – 1986. – Vol. 44. – P. 713–736.
201. Macdonald R.L., Rogers C.J., Twyman R.E. Barbiturate regulation of kinetic properties of the GABAA receptor channel of mouse spinal neurones in culture // *Journal of Physiology*. – 1989. – Vol. 417. – №. 1. – P. 483–500.
202. Macdonald R.L., Rogers C.J., Twyman R.E. Kinetic properties of the GABAA receptor main conductance state of mouse spinal cord neurones in culture // *The Journal of Physiology*. – 1989. – Vol. 410. – №. 1. – P. 479-499.
203. Maguire J., Mody I. GABAAR plasticity during pregnancy: relevance to postpartum depression // *Neuron*. – 2008. – Vol. 59. – №. 2. – P. 207–213.
204. Majewska M.D., Demirgören S., Spivak C.E., et al. The neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate is an allosteric antagonist of the GABAA receptor // *Brain Research*. – 1990. – Vol. 526. – №. 1. – P. 143–146.
205. Malar D.S., Thitilertdecha P., Ruckvongacheep K.S., et al. Targeting sigma receptors for the treatment of neurodegenerative and neurodevelopmental disorders // *CNS Drugs*. – 2023. – Vol. 37. – №. 5. – P. 399–440.
206. Malik M., Rangel-Barajas C., Mach R.H., et al. The effect of the sigma-1 receptor selective compound LS-1-137 on the DOI-induced head twitch response in mice // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2016. – Vol. 148. – P. 136-144.
207. Mamiya T., Noda Y., Noda A., et al. Effects of sigma receptor agonists on the impairment of spontaneous alternation behavior and decrease of cyclic GMP level induced by nitric oxide synthase inhibitors in mice // *Neuropharmacology*. – 2000. – Vol. 39. – №. 12. – P. 2391-2398.

208. Mancuso R., Oliván S., Rando A., et al. Sigma-1R agonist improves motor function and motoneuron survival in ALS mice // *Neurotherapeutics*. – 2012. – Vol. 9. – №. 4. – P. 814–826.
209. Martin P., Reeder T., Sourbron J., et al. An emerging role for sigma-1 receptors in the treatment of developmental and epileptic encephalopathies // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – №. 16. – P. 8416.
210. Martina M., Turcotte M.E.B., Halman S., et al. The sigma-1 receptor modulates NMDA receptor synaptic transmission and plasticity via SK channels in rat hippocampus // *The Journal of Physiology*. – 2007. – Vol. 578. – №. 1. – P. 143–157.
211. Masiulis S., Desai R., Uchański T., et al. GABAA receptor signalling mechanisms revealed by structural pharmacology // *Nature*. – 2019. – Vol. 565. – №. 7740. – P. 454–459.
212. Matsumoto A., Kumagai T., Miura K., et al. Epilepsy in Angelman syndrome associated with chromosome 15q deletion // *Epilepsia*. – 1992. – Vol. 33. – №. 6. – P. 1083-1090.
213. Matsumoto R.R., Bowen W.D., Tom M.A., et al. Characterization of two novel σ receptor ligands: antidystonic effects in rats suggest σ receptor antagonism // *European Journal of Pharmacology*. – 1995. – Vol. 280. – №. 3. – P. 301-310.
214. Matsumoto R.R., McCracken K.A., Pouw B., et al. Involvement of sigma receptors in the behavioral effects of cocaine: evidence from novel ligands and antisense oligodeoxynucleotides // *Neuropharmacology*. – 2002. – Vol. 42. – №. 8. – P. 1043–1055.
215. Maurice T., Casalino M., Lacroix M., et al. Involvement of the sigma-1 receptor in the motivational effects of ethanol in mice // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2003. – Vol. 74. – №. 4. – P. 869-876.
216. Maurice T., Gogvadze N. Sigma-1 (σ_1) receptor in memory and neurodegenerative diseases // *Handbook of Experimental Pharmacology*. – 2017. – Vol. 244. – P. 81–108.

217. Mazarati A.M., Baldwin R., Klitgaard H. Anticonvulsant effects of levetiracetam and levetiracetam–diazepam combinations in experimental status epilepticus // *Epilepsy Research*. – 2004. – Vol. 58. – №. 2-3. – P. 167-174.
218. Meltzer-Brody S., Colquhoun H., Riesenberger R., et al. Brexanolone injection in post-partum depression: two multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 392. – №. 10152. – P. 1058–1070.
219. Meng F., Xiao Y., Ji Y., et al. An open-like conformation of the sigma-1 receptor reveals its ligand entry pathway // *Nature Communications*. – 2022. – Vol. 13. – №. 1. – P. 1267.
220. Miki Y., Mori F., Kon T., et al. Accumulation of the sigma-1 receptor is common feature of alpha-synucleinopathies // *Neuropathology*. – 2014. – Vol. 34. – №. 6. – P. 523–527.
221. Miller P.S., Aricescu A.R. Crystal structure of a human GABAA receptor // *Nature*. – 2014. – Vol. 512. – №. 7514. – P. 270–275.
222. Mishra A.K., Mavlyutov T., Singh D.R., et al. The sigma-1 receptors are present in monomeric and oligomeric forms in living cells in the presence and absence of ligands // *Biochemical Journal*. – 2015. – Vol. 466. – №. 2. – P. 263–271.
223. Mitchell S.J., Phillips G.D., Tenchet B., et al. Neurosteroid modulation of synaptic and extrasynaptic GABAA receptors of the mouse nucleus accumbens // *Biomolecules*. – 2024. – Vol. 14. – №. 4. – P. 460.
224. Möhler H., Okada T. Benzodiazepine receptor: demonstration in the central nervous system // *Science*. – 1977. – Vol. 198. – №. 4319. – P. 849–851.
225. Monnet F.P. Sigma-1 receptor as regulator of neuronal intracellular Ca²⁺: clinical and therapeutic relevance // *Biology of the Cell*. – 2005. – Vol. 97. – №. 12. – P. 873-883.
226. Mori T., Hayashi T., Bhana E., et al. Sigma-1 receptor chaperone at the ER-mitochondrion interface mediates the mitochondrion-ER-nucleus signaling for cellular survival // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – №. 10. – P. e76941.

227. Morin-Surun M.P., Collin T., Denavit-Saubie M., et al. Intracellular σ_1 receptor modulates phospholipase C and protein kinase C activities in the brainstem // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1999. – Vol. 96. – №. 14. – P. 8196-8199.
228. Mortensen M., Bright D.P., Fagotti J., et al. Forty years searching for neurosteroid binding sites on GABAA receptors // *Neuroscience*. – 2025. – Vol. 578. – P. 6–24.
229. Moss S.J., Smart T.G. Constructing inhibitory synapses // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2001. – Vol. 2. – №. 4. – P. 240–250.
230. Moyer M.B., Langbein J., Tsybalyuk O., et al. Dose Escalation in Pentylentetrazol Kindling Detects Differences in Chronic Seizure Susceptibility // *bioRxiv*. – 2025. – P. 2025.01.29.635374.
231. Mtchedlishvili Z., Kapur J. A presynaptic action of the neurosteroid pregnenolone sulfate on GABAergic synaptic transmission // *Molecular Pharmacology*. – 2003. – Vol. 64. – №. 4. – P. 857-864.
232. Muller W.E., Siebert B., Holoubek G., et al. Neuropharmacology of the anxiolytic drug opripramol, a sigma site ligand // *Pharmacopsychiatry*. – 2004. – Vol. 37. – №. S 3. – P. 189-197.
233. Mysona B.A., Zhao J., De Greef O., et al. Sigma-1 receptor agonist, (+)-pentazocine, is neuroprotective in a Brown Norway rat microbead model of glaucoma // *Experimental Eye Research*. – 2023. – Vol. 226. – P. 109308.
234. Nandi A., Virmani G., Barve A., et al. DBscorer: An open-source software for automated accurate analysis of rodent behavior in forced swim test // *eNeuro*. – 2021. – Vol. 8. – №. 6.
235. Narita N., Hashimoto K., Tomitaka S., et al. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain // *European Journal of Pharmacology*. – 1996. – Vol. 307. – №. 2. – P. 117–119.
236. National Research Council et al. Environment, housing, and management // *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8th edition. – National Academies Press (US), 2011.

237. Navarro G., Moreno E., Aymerich M., et al. Direct involvement of sigma-1 receptors in the dopamine D1 receptor-mediated effects of cocaine // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107. – №. 43. – P. 18676–18681.

238. Newland C.F., Cull-Candy S.G. On the mechanism of action of picrotoxin on GABA receptor channels in dissociated sympathetic neurones of the rat // *The Journal of Physiology*. – 1992. – Vol. 447. – №. 1. – P. 191-213.

239. Neznamov G.G., Sinyukov S.A., Chumakov D.V., et al. The results of the clinical trial of the selective anxiolytic drug afobazole // *Experimental and Clinical Pharmacology*. – 2001. – Vol. 64. – №. 2. – P. 15–19.

240. Nguyen L., Lucke-Wold B.P., Mookerjee S.A., et al. Role of sigma-1 receptors in neurodegenerative diseases // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2015. – Vol. 127. – №. 1. – P. 17-29.

241. Noda Y., Kamei H., Kamei Y., et al. Neurosteroids ameliorate conditioned fear stress: an association with sigma-1 receptors // *Neuropsychopharmacology*. – 2000. – Vol. 23. – №. 3. – P. 276-284.

242. Nothdurfter C., Tanasic S., Di Benedetto B., et al. Lipid raft integrity affects GABAA receptor, but not NMDA receptor modulation by psychopharmacological compounds // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2013. – Vol. 16. – №. 6. – P. 1361-1371.

243. Nusser Z., Sieghart W., Benke D., et al. Differential synaptic localization of two major γ -aminobutyric acid type A receptor α subunits on hippocampal pyramidal cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – Vol. 93. – №. 21. – P. 11939–11944.

244. Nusser Z., Sieghart W., Somogyi P. Segregation of different GABAA receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells // *Journal of Neuroscience*. – 1998. – Vol. 18. – №. 5. – P. 1693–1703.

245. Nutt D.J., Taylor S.C., Little H.J. Optimizing the pentetrazol infusion test for seizure threshold measurement // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 1986. – Vol. 38. – №. 9. – P. 697-698.

246. Öfverman C. Progesterone metabolites: learning, tolerance, antagonism & metabolism. – Umeå University, 2009.
247. Okuyama S., Nakazato A. NE-100: a novel sigma receptor antagonist // *CNS Drug Reviews*. – 1996. – Vol. 2. – №. 2. – P. 226–237.
248. Olsen R.W. GABAA receptor: Positive and negative allosteric modulators // *Neuropharmacology*. – 2018. – Vol. 136. – P. 10–22.
249. Olsen R.W. Picrotoxin-like channel blockers of GABAA receptors // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 103. – №. 16. – P. 6081-6082.
250. Olsen R.W. The GABA postsynaptic membrane receptor-ionophore complex. Site of action of convulsant and anticonvulsant drugs // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 1981. – Vol. 39. – P. 261–279.
251. Olsen R.W., Lindemeyer A.K., Wallner M., et al. Cryo-electron microscopy reveals informative details of GABAA receptor structural pharmacology: implications for drug discovery // *Annals of Translational Medicine*. – 2019. – Vol. 7. – №. Suppl 3. – P. S144.
252. Olsen R.W., Sieghart W. GABAA receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology // *Neuropharmacology*. – 2009. – Vol. 56. – №. 1. – P. 141–148.
253. Olsen R.W., Sieghart W. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of γ -aminobutyric acidA receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update // *Pharmacological Reviews*. – 2008. – Vol. 60. – №. 3. – P. 243–260.
254. Olsen R.W., Yang J., King R.G., et al. Barbiturate and benzodiazepine modulation of GABA receptor binding and function // *Life Sciences*. – 1986. – Vol. 39. – №. 21. – P. 1969-1976.
255. Ortega-Roldan J.L., Ossa F., Schnell J.R. Characterization of the human sigma-1 receptor chaperone domain structure and binding immunoglobulin protein (BiP) interactions // *Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – №. 29. – P. 21448–21457.

256. Ossa F., Schnell J.R., Ortega-Roldan J.L. A review of the human sigma-1 receptor structure // *Sigma Receptors: Their Role in Disease and as Therapeutic Targets*. – 2017. – P. 15–29.

257. Pabba M., Wong A.Y., Ahlskog N., et al. NMDA receptors are upregulated and trafficked to the plasma membrane after sigma-1 receptor activation in the rat hippocampus // *Journal of Neuroscience*. – 2014. – Vol. 34. – №. 34. – P. 11325–11338.

258. Palmer C.P., Mahen R., Bhana E., et al. Sigma-1 receptors bind cholesterol and remodel lipid rafts in breast cancer cell lines // *Cancer Research*. – 2007. – Vol. 67. – №. 23. – P. 11166–11175.

259. Paolo S.D., Canu S., Sardella M., et al. Dopamine is involved in the antidepressant-like effect of allopregnanolone in the forced swimming test in female rats // *Behavioural Pharmacology*. – 2010. – Vol. 21. – №. 1. – P. 21-28.

260. Peng Z., Huang C.S., Stell B.M., et al. Altered expression of the δ subunit of the GABAA receptor in a mouse model of temporal lobe epilepsy // *Journal of Neuroscience*. – 2004. – Vol. 24. – №. 39. – P. 8629–8639.

261. Poleszak E., Socala K., Szopa A., et al. Involvement of NMDA receptor complex in the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide in mice // *Journal of Neural Transmission*. – 2011. – Vol. 118. – №. 6. – P. 857-864.

262. Pozdnyakova N., Krisanova N., Dudarenko M., et al. Inhibition of sigma-1 receptors substantially modulates GABA and glutamate transport in presynaptic nerve terminals // *Experimental Neurology*. – 2020. – Vol. 333. – P. 113434.

263. Prasad P.D., Li H.W., Fei Y.J., et al. Exon-intron structure, analysis of promoter region, and chromosomal localization of the human type 1 sigma receptor gene // *Journal of Neurochemistry*. – 1998. – Vol. 70. – №. 2. – P. 443–451.

264. Pressly B., Vasylieva N., Barnych B., et al. Comparison of the toxicokinetics of the convulsants picrotoxinin and tetramethylenedisulfotetramine

(TETS) in mice // *Archives of Toxicology*. – 2020. – Vol. 94. – №. 6. – P. 1995-2007.

265. Qian M., Xu Y., Shu H.J., et al. Synthesis and evaluation of photoaffinity labeling reagents for identifying binding sites of sulfated neurosteroids on NMDA and GABAA receptors // *RSC Advances*. – 2024. – Vol. 14. – №. 49. – P. 36352–36369.

266. Qin Y., Xu W., Li K., et al. Repeated inhibition of sigma-1 receptor suppresses GABAA receptor expression and long-term depression in the nucleus accumbens leading to depressive-like behaviors // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2022. – Vol. 15. – P. 959224.

267. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. – 1972. – Vol. 32. – №. 3. – P. 281–294.

268. Raimondo J.V., Burman R.J., Katz A.A., et al. Ion dynamics during seizures // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2015. – Vol. 9. – P. 419.

269. Ramanjaneyulu R., Ticku M.K. Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex // *European Journal of Pharmacology*. – 1984. – Vol. 98. – №. 3-4. – P. 337-345.

270. Reddy D.S. Neurosteroids: endogenous role in the human brain and therapeutic potentials // *Progress in Brain Research*. – 2010. – Vol. 186. – P. 113–137.

271. Reddy D.S., Kaur G., Kulkarni S.K. Sigma (σ_1) receptor mediated antidepressant-like effects of neurosteroids in the Porsolt forced swim test // *Neuroreport*. – 1998. – Vol. 9. – №. 13. – P. 3069-3073.

272. Reddy D.S., Mbilinyi R.H., Estes E. Preclinical and clinical pharmacology of brexanolone (allopregnanolone) for postpartum depression: a landmark journey from concept to clinic in neurosteroid replacement therapy // *Psychopharmacology*. – 2023. – Vol. 240. – №. 9. – P. 1841–1863.

273. Rehberg B., Duch D.S., Urban B.W. The voltage-dependent action of pentobarbital on batrachotoxin-modified human brain sodium channels // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. – 1994. – Vol. 1194. – №. 2. – P. 215–222.

274. Rho J.M., Donevan S.D., Rogawski M.A. Direct activation of GABAA receptors by barbiturates in cultured rat hippocampal neurons // *The Journal of Physiology*. – 1996. – Vol. 497. – №. 2. – P. 509–522.

275. Rodríguez-Muñoz M., Cortés-Montero E., Garzón-Niño J., et al. The ALS-related σ 1R E102Q mutant eludes ligand control and exhibits anomalous response to calcium // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – №. 19. – P. 7339.

276. Rodriguez-Munoz M., Onetti Y., Cortes-Montero E., et al. Cannabidiol enhances morphine antinociception, diminishes NMDA-mediated seizures and reduces stroke damage via the sigma 1 receptor // *Molecular Brain*. – 2018. – Vol. 11. – №. 1. – P. 51.

277. Rogawski M.A., Porter R.J. Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds // *Pharmacological Reviews*. – 1990. – Vol. 42. – №. 3. – P. 223–286.

278. Rogers C.J., Twyman R.E., Macdonald R.L. Benzodiazepine and β -carboline regulation of single GABAA receptor channels of mouse spinal neurones in culture // *Journal of Physiology*. – 1994. – Vol. 475. – №. 1. – P. 69–82.

279. Romero L., Zamanillo D., Nadal X., et al. Pharmacological properties of S1RA, a new sigma-1 receptor antagonist that inhibits neuropathic pain and activity of paclitaxel in resistance to antitumor cells // *British Journal of Pharmacology*. – 2012. – Vol. 166. – №. 8. – P. 2289–2306.

280. Ronchi N.R., Silva G.D. Comparison of the clinical syndromes of anti-GABA α versus anti-GABA β associated autoimmune encephalitis: a systematic review // *Journal of Neuroimmunology*. – 2022. – Vol. 363. – P. 577804.

281. Rosen D.A., Seki S.M., Fernandez-Castaneda A., et al. Modulation of the sigma-1 receptor–IRE1 pathway is beneficial in preclinical models of inflammation and sepsis // *Science Translational Medicine*. – 2019. – Vol. 11. – №. 478. – P. eaau5266.

282. Rosenberg G. The mechanisms of action of valproate in neuropsychiatric disorders: can we see the forest for the trees? // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2007. – Vol. 64. – №. 16. – P. 2090-2103.

283. Rudolph U., Crestani F., Benke D., et al. Benzodiazepine actions mediated by specific γ -aminobutyric acidA receptor subtypes // *Nature*. – 1999. – Vol. 401. – №. 6755. – P. 796–800.

284. Rudolph U., Knoflach F. Beyond classical benzodiazepines: novel therapeutic potential of GABAA receptor subtypes // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2011. – Vol. 10. – №. 9. – P. 685–697.

285. Rudolph U., Möhler H. GABAA receptor subtypes: Therapeutic potential in Down syndrome, affective disorders, schizophrenia, and autism // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 2014. – Vol. 54. – №. 1. – P. 483–507.

286. Ruscher K., Wieloch T. The involvement of the sigma-1 receptor in neurodegeneration and neurorestoration // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2015. – Vol. 127. – №. 1. – P. 30–35.

287. Russell W.B., Burch R.L. The principles of humane experimental technique // Special ed. South Mimms, Potters Bar, Herts, England: Universities Federation for Animal Welfare. – 1959. – Vol. 165.

288. Rybczynska A.A., Elsinga P.H., Sijbesma J.W., et al. Steroid hormones affect binding of the sigma ligand 11C-SA4503 in tumour cells and tumour-bearing rats // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. – 2009. – Vol. 36. – №. 7. – P. 1167–1175.

289. Sachidanandan D., Reddy H.P., Mani A., et al. The neuropeptide orexin-A inhibits the GABAA receptor by PKC and Ca²⁺/CaMKII-dependent

phosphorylation of its $\beta 1$ subunit // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2017. – Vol. 61. – №. 4. – P. 459-467.

290. Sallard E., Letourneur D., Legendre P. Electrophysiology of ionotropic GABA receptors // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2021. – Vol. 78. – №. 13. – P. 5341–5370.

291. Sánchez-Fernández C., Nieto F.R., González-Cano R., et al. Potentiation of morphine-induced mechanical antinociception by $\sigma 1$ receptor inhibition: role of peripheral $\sigma 1$ receptors // *Neuropharmacology*. – 2013. – Vol. 70. – P. 348–358.

292. Sancar F., Czajkowski C. A GABAA receptor mutation linked to human epilepsy ($\gamma 2R43Q$) impairs cell surface expression of $\alpha\beta\gamma$ receptors // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279. – №. 45. – P. 47034–47039.

293. Sanchez-Blazquez P., Rodriguez-Munoz M., Herrero-Labrador R., et al. The calcium-sensitive Sigma-1 receptor prevents cannabinoids from provoking glutamate NMDA receptor hypofunction: implications in antinociception and psychotic diseases // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2014. – Vol. 17. – №. 12. – P. 1943–1955.

294. Saper C.B., Scammell T.E., Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms // *Nature*. – 2005. – Vol. 437. – №. 7063. – P. 1257–1263.

295. Schmidt H.R., Betz R.M., Dror R.O., et al. Structural basis for $\sigma 1$ receptor ligand recognition // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2018. – Vol. 25. – №. 10. – P. 981–987.

296. Schmidt H.R., Kruse A.C. The molecular function of σ receptors: past, present, and future // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2019. – Vol. 40. – №. 9. – P. 636–654.

297. Schmidt H.R., Zheng S., Gurpinar E., et al. Crystal structure of the human $\sigma 1$ receptor // *Nature*. – 2016. – Vol. 532. – №. 7600. – P. 527–530.

298. Schüle C., Nothdurfter C., Rupprecht R. The role of allopregnanolone in depression and anxiety // *Progress in Neurobiology*. – 2014. – Vol. 113. – P. 79–87.

299. Seo S.Y., Kim S.P., Bang S.K., et al. The effect of acupuncture stimulation on alleviating emotional changes due to acute alcohol administration and the possibility of sigma1 receptor involvement // *Integrative Medicine Research*. – 2021. – Vol. 10. – №. 2. – P. 100497.
300. Sequeira A., Shen K., Gottlieb A., et al. Human brain transcriptome analysis finds region- and subject-specific expression signatures of GABAAR subunits // *Communications Biology*. – 2019. – Vol. 2. – №. 1. – P. 153.
301. Seredenin S.B., Voronin M.V. Neuroreceptor mechanisms of the afobazole effect // *Eksperimental'naiia i klinicheskaia farmakologiya*. – 2009. – Vol. 72. – №. 1. – P. 3–11.
302. Seutin V., Scuvée-Moreau J., Dresse A. Evidence for a non-GABAergic action of quaternary salts of bicuculline on dopaminergic neurones // *Neuropharmacology*. – 1997. – Vol. 36. – №. 11-12. – P. 1653-1657.
303. Shannon M., Albers G., Burkhardt K. Safety and efficacy of flumazenil in the reversal of benzodiazepine-induced conscious sedation // *Journal of Pediatrics*. – 1997. – Vol. 131. – №. 4. – P. 582–586.
304. Shaye H., Ishchenko A., Lam J.H., et al. Structural basis of the activation of a metabotropic GABA receptor // *Nature*. – 2020. – Vol. 584. – №. 7820. – P. 298–303.
305. Sieghart W. Allosteric modulation of GABA_A receptors via multiple drug-binding sites // *Advances in Pharmacology*. – 2015. – Vol. 72. – P. 53-96.
306. Sigel E., Ernst M. The benzodiazepine binding sites of GABA_A receptors // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2018. – Vol. 39. – №. 7. – P. 659–671.
307. Sigel E., Steinmann M.E. Structure, function, and modulation of GABA_A receptors // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287. – №. 48. – P. 40224–40231.
308. Sierra-Valdez F.J., Ruiz-Suarez J.C., Delint-Ramirez I. Pentobarbital modifies the lipid raft-protein interaction: a first clue about the anesthesia

mechanism on NMDA and GABAA receptors // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. – 2016. – Vol. 1858. – №. 11. – P. 2603-2610.

309. Sivcev S., Kudova E., Zemkova H. Neurosteroids as positive and negative allosteric modulators of ligand-gated ion channels: P2X receptor perspective // *Neuropharmacology*. – 2023. – Vol. 234. – P. 109542.

310. Skilbeck K.J., Johnston G.A.R., Hinton T. Stress and GABAA receptors // *Journal of Neurochemistry*. – 2010. – Vol. 112. – №. 5. – P. 1115-1130.

311. Skuza G., Rogóż Z. Antidepressant-like effect of PRE-084, a selective σ_1 receptor agonist, in Albino Swiss and C57BL/6J mice // *Pharmacological Reports*. – 2009. – Vol. 61. – №. 6. – P. 1179-1183.

312. Smith G.B., Olsen R.W. Functional domains of GABAA receptors // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 1995. – Vol. 16. – №. 5. – P. 162–168.

313. Smith S.S., Gong Q.H., Hsu F.-C., et al. GABAA receptor α_4 subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid // *Nature*. – 1998. – Vol. 392. – №. 6679. – P. 926–930.

314. Snodgrass S.R. GABA and epilepsy: their complex relationship and the evolution of our understanding // *Journal of Child Neurology*. – 1992. – Vol. 7. – №. 1. – P. 77-86.

315. Sogaard R., Werge T.M., Bertelsen C., et al. GABAA receptor function is regulated by lipid bilayer elasticity // *Biochemistry*. – 2006. – Vol. 45. – №. 43. – P. 13118-13129.

316. Sohal V.S., Rubenstein J.L.R. Excitation-inhibition balance as a framework for investigating mechanisms in neuropsychiatric disorders // *Molecular Psychiatry*. – 2019. – Vol. 24. – №. 9. – P. 1248–1257.

317. Sooksawate T., Simmonds M.A. Effects of membrane cholesterol on the sensitivity of the GABAA receptor to GABA in acutely dissociated rat hippocampal neurones // *Neuropharmacology*. – 2001. – Vol. 40. – №. 2. – P. 178-184.

318. Squires R.F., Braestrup C. Benzodiazepine receptors in rat brain // *Nature*. – 1977. – Vol. 266. – №. 5604. – P. 732–734.

319. Stappaerts J., Geboers S., Snoeys J., et al. Rapid conversion of the ester prodrug abiraterone acetate results in intestinal supersaturation and enhanced absorption of abiraterone: in vitro, rat in situ and human in vivo studies // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2015. – Vol. 90. – P. 1-7.

320. Stárka L., Dušková M., Hill M. Dehydroepiandrosterone: a neuroactive steroid // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. – 2015. – Vol. 145. – P. 254–260.

321. Stell B.M., Brickley S.G., Tang C.Y., et al. Neuroactive steroids reduce neuronal excitability by selectively enhancing tonic inhibition mediated by δ subunit-containing GABAA receptors // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2003. – Vol. 100. – №. 24. – P. 14439–14444.

322. Steru L., Chermat R., Thierry B., et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice // *Psychopharmacology*. – 1985. – Vol. 85. – №. 3. – P. 367-370.

323. Study R.E., Barker J.L. Diazepam and (–)-pentobarbital: fluctuation analysis reveals different mechanisms for potentiation of γ -aminobutyric acid responses in cultured central neurons // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1981. – Vol. 78. – №. 11. – P. 7180–7184.

324. Su T.P., Hayashi T., Maurice T., et al. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2010. – Vol. 31. – №. 12. – P. 557–566.

325. Su T.P., Su T.C., Nakamura Y., et al. The sigma-1 receptor as a pluripotent modulator in living systems // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2016. – Vol. 37. – №. 4. – P. 262–278.

326. Su T.P., Wu X.Z., Cone E.J., et al. Sigma compounds derived from phencyclidine: identification of PRE-084, a new, selective sigma ligand // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1991. – Vol. 259. – №. 2. – P. 543-550.

327. Sugasawa Y., Cheng W.W.L., Bracamontes J.R., et al. Site-specific effects of neurosteroids on GABAA receptor activation and desensitization // *eLife*. – 2020. – Vol. 9. – P. e55331.
328. Sullivan J. et al. Phase 2, placebo-controlled clinical study of oral ganaxolone in PCDH19-clustering epilepsy // *Epilepsy Research*. – 2023. – P. 107112.
329. Sun C., Zhu H., Clark S., et al. Cryo-EM structures reveal native GABAA receptor assemblies and pharmacology // *Nature*. – 2023. – Vol. 622. – №. 7981. – P. 195–201.
330. Swinyard E.A., Castellion A.W. Anticonvulsant properties of some benzodiazepines // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1966. – Vol. 151. – №. 3. – P. 369–375.
331. Takasu K., Yawata Y., Tashima R., et al. Distinct mechanisms of allopregnanolone and diazepam underlie neuronal oscillations and differential antidepressant effect // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2024. – Vol. 17. – P. 1274459.
332. Takebayashi M., Hayashi T., Su T.P. σ -1 Receptors potentiate epidermal growth factor signaling towards neuritogenesis in PC12 cells: Potential relation to lipid raft reconstitution // *Synapse*. – 2004. – Vol. 53. – №. 2. – P. 90-103.
333. Taleb O., Trouslard J., Demeneix B.A., et al. Spontaneous and GABA-evoked chloride channels on pituitary intermediate lobe cells and their internal Ca requirements // *Pflügers Archiv*. – 1987. – Vol. 409. – №. 6. – P. 620-631.
334. Tateiwa H., Evers A.S. Neurosteroids and their potential as a safer class of general anesthetics // *Journal of Anesthesia*. – 2024. – Vol. 38. – №. 2. – P. 261-274.
335. Tchedre K.T., Yorio T. Sigma-1 receptors protect RGC-5 cells from apoptosis by regulating intracellular calcium, Bax levels, and caspase-3 activation

// *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2008. – Vol. 49. – №. 6. – P. 2577–2588.

336. Tchedre K.T., Huang R.Q., Dibas A., et al. Sigma-1 receptor regulation of voltage-gated calcium channels involves a direct interaction // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2008. – Vol. 49. – №. 11. – P. 4993-5002.

337. Thomas P., Pang Y. Anti-apoptotic actions of allopregnanolone and ganaxolone mediated through membrane progesterone receptors (PAQRs) in neuronal cells // *Frontiers in Endocrinology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 417.

338. Thompson A.J., Lester H.A., Lummis S.C.R., et al. The structural basis of function in Cys-loop receptors // *Quarterly Reviews of Biophysics*. – 2010. – Vol. 43. – №. 4. – P. 449–499.

339. Thompson S.M. Modulators of GABAA receptor-mediated inhibition in the treatment of neuropsychiatric disorders: past, present, and future // *Neuropsychopharmacology*. – 2024. – Vol. 49. – №. 1. – P. 83-95.

340. Tobler I., Kopp C., Deboer T., et al. Diazepam-induced changes in sleep: role of the $\alpha 1$ GABAA receptor subtype // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2001. – Vol. 98. – №. 11. – P. 6464-6469.

341. Treiman D.M. GABAergic mechanisms in epilepsy // *Epilepsia*. – 2001. – Vol. 42. – №. Suppl 3. – P. 8–12.

342. Tretter V., Ehya N., Fuchs K., et al. Stoichiometry and assembly of a recombinant GABAA receptor subtype // *Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 17. – №. 8. – P. 2728–2737.

343. Trinkka E., Höfler J., Leitinger M., et al. Pharmacotherapy for status epilepticus // *Drugs*. – 2015. – Vol. 75. – №. 13. – P. 1499–1521.

344. Tsai S.Y., Chuang J.Y., Tsai M.S., et al. Sigma-1 receptor mediates cocaine-induced transcriptional regulation by recruiting chromatin-remodeling factors at the nuclear envelope // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – Vol. 112. – №. 47. – P. E6562–E6570.

345. Twyman R.E., Rogers C.J., Macdonald R.L. Differential regulation of γ -aminobutyric acid receptor channels by diazepam and phenobarbital // *Annals of Neurology*. – 1989. – Vol. 25. – №. 3. – P. 213–220.

346. Tyagarajan S.K., Fritschy J.-M. Gephyrin: a master regulator of neuronal function? // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2014. – Vol. 15. – №. 3. – P. 141–156.

347. Ueno S., Bracamontes J., Zorumski C., et al. Bicuculline and gabazine are allosteric inhibitors of channel opening of the GABAA receptor // *Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 17. – №. 2. – P. 625-634.

348. Vagnerova K., Hurn P.D., Bhardwaj A., et al. Sigma 1 receptor agonists act as neuroprotective drugs through inhibition of inducible nitric oxide synthase // *Anesthesia & Analgesia*. – 2006. – Vol. 103. – №. 2. – P. 430–434.

349. Vallée M., Rivera J.D., Koob G.F., et al. Quantification of neurosteroids in rat plasma and brain following swim stress and allopregnanolone administration using negative chemical ionization gas chromatography/mass spectrometry // *Analytical Biochemistry*. – 2000. – Vol. 287. – №. 1. – P. 153-166.

350. Van der Heyden J.A.M., Molewijk E., Olivier B. Strain differences in response to drugs in the tail suspension test for antidepressant activity // *Psychopharmacology*. – 1987. – Vol. 92. – №. 1. – P. 127-130.

351. Van Eenige R., Verhave P.S., Koemans P.J., et al. RandoMice, a novel, user-friendly randomization tool in animal research // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15. – №. 8. – P. e0237096.

352. Van Erum J., Van Dam D., De Deyn P.P. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale // *Epilepsy & Behavior*. – 2019. – Vol. 95. – P. 51-55.

353. Vargas-Caballero M., Martin L.J., Salter M.W., et al. $\alpha 5$ Subunit-containing GABAA receptors mediate a slowly decaying inhibitory synaptic current in CA1 pyramidal neurons following Schaffer collateral activation // *Neuropharmacology*. – 2010. – Vol. 58. – №. 3. – P. 668–675.

354. Vavers E., Svalbe B., Lauberte L., et al. The activity of selective sigma-1 receptor ligands in seizure models in vivo // Behavioural Brain Research. – 2017. – Vol. 328. – P. 13-18.
355. Vavers E., Zvejniece B., Stelfa G., et al. Genetic inactivation of the sigma-1 chaperone protein results in decreased expression of the R2 subunit of the GABA-B receptor and increased susceptibility to seizures // Neurobiology of Disease. – 2021. – Vol. 150. – P. 105244.
356. Vavers E., Zvejniece L., Dambrova M. Sigma-1 receptor and seizures // Pharmacological Research. – 2023. – Vol. 191. – P. 106771.
357. Verdoorn T.A., Draguhn A., Ymer S., et al. Functional properties of recombinant rat GABAA receptors depend upon subunit composition // Neuron. – 1990. – Vol. 4. – №. 6. – P. 919–928.
358. Vidal-Torres A., de la Puente B., Rocasalbas M., et al. Sigma-1 receptor antagonism as opioid adjuvant strategy: enhancement of opioid antinociception without increasing adverse effects // European Journal of Pharmacology. – 2013. – Vol. 711. – №. 1-3. – P. 63–72.
359. Voronin M.V., Abramova E.V., Verbovaya E.R., et al. Chaperone-dependent mechanisms as a pharmacological target for neuroprotection // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – №. 1. – P. 823.
360. Voronin M.V., Kadnikov I.A. Contribution of Sigma-1 receptor to cytoprotective effect of afobazole // Pharmacology Research & Perspectives. – 2016. – Vol. 4. – №. 6. – P. e00273.
361. Voronin M.V., Kadnikov I.A., Voronkov D.N., et al. Chaperone Sigma1R mediates the neuroprotective action of afobazole in the 6-OHDA model of Parkinson's disease // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – №. 1. – P. 17020.
362. Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Seredenin S.B. Chaperone Sigma1R and antidepressant effect // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – №. 19. – P. 7088.

363. Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Tsypysheva I.P., et al. Involvement of chaperone Sigma1R in the anxiolytic effect of fabomotizole // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – №. 11. – P. 5455.
364. Wafford K.A. The pharmacology of extrasynaptic GABAA receptors // *Extrasynaptic GABAA Receptors*. – New York, NY: Springer New York, 2014. – P. 51-74.
365. Walton N., Maguire J. Allopregnanolone-based treatments for postpartum depression: Why/how do they work? // *Neurobiology of Stress*. – 2019. – Vol. 11. – P. 100198.
366. Wang J., Gu J., Zhu G., et al. Pentazocine protects SN4741 cells against MPP⁺-induced cell damage via Up-regulation of the canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway // *Frontiers in Aging Neuroscience*. – 2017. – Vol. 9. – P. 196.
367. Wang L., Covey D.F., Akk G., et al. Neurosteroid modulation of GABAA receptor function by independent action at multiple specific binding sites // *Current Neuropharmacology*. – 2022. – Vol. 20. – №. 5. – P. 886–890.
368. Wang Y.J., Di X.J., Mu T.W. Quantitative interactome proteomics identifies a proteostasis network for GABAA receptors // *Journal of Biological Chemistry*. – 2022. – Vol. 298. – №. 10.
369. Weinbroum A.A., Flaishon R., Sorkine P., et al. A risk–benefit assessment of flumazenil in the management of benzodiazepine overdose // *Drug Safety*. – 1997. – Vol. 17. – №. 3. – P. 181–196.
370. Weiss M., Tikhonov D., Buldakova S. Effect of flumazenil on GABAA receptors in isolated rat hippocampal neurons // *Neurochemical Research*. – 2002. – Vol. 27. – №. 12. – P. 1605–1612.
371. Whittsette A.L., Wang Y.J., Mu T.W. The endoplasmic reticulum membrane complex promotes proteostasis of GABAA receptors // *iScience*. – 2022. – Vol. 25. – №. 8.

372. Wieland H.A., Lüddens H., Seeburg P.H. A single histidine in GABAA receptors is essential for benzodiazepine agonist binding // *Journal of Biological Chemistry*. – 1992. – Vol. 267. – №. 3. – P. 1426–1429.

373. Winterer G. Valproate and GABAergic system effects // *Neuropsychopharmacology*. – 2003. – Vol. 28. – №. 11. – P. 2050-2051.

374. Wu S.A., Li Z.J., Qi L. Endoplasmic reticulum (ER) protein degradation by ER-associated degradation and ER-phagy // *Trends in Cell Biology*. – 2025. – Vol. 35. – №. 7. – P. 576–591.

375. Yang X., Li P., Lei J., et al. Integrated application of low-intensity pulsed ultrasound in diagnosis and treatment of atrophied skeletal muscle induced in tail-suspended rats // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – №. 18. – P. 10369.

376. Yarkova M.A., Seredenin S.B. Temporal characteristics of stress-induced decrease in benzodiazepine reception in C57BL/6 and BALB/c mice // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 157. – №. 6. – P. 762-764.

377. Yuan B., Hatchett-Walker C., Long P., et al. Control of cell surface expression of GABAA receptors by a conserved region at the end of the N-terminal extracellular domain of receptor subunits // *Journal of Biological Chemistry*. – 2022. – Vol. 298. – №. 12. – P. 102590.

378. Zarrouki F., Goutal S., Vacca O., et al. Abnormal expression of synaptic and extrasynaptic GABAA receptor subunits in the dystrophin-deficient mdx mouse // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – №. 20. – P. 12617.

379. Zhang B., Wang L., Chen T., et al. Sigma-1 receptor deficiency reduces GABAergic inhibition in the basolateral amygdala leading to LTD impairment and depressive-like behaviors // *Neuropharmacology*. – 2017. – Vol. 116. – P. 387-398.

380. Zhao J., Veeranan-Karmegam R., Baker F.C., et al. Defining the ligand-dependent proximate of the sigma 1 receptor // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2023. – Vol. 11. – P. 1045759.

381. Zhemkov V., Ditlev J.A., Lee W.R., et al. The role of sigma 1 receptor in organization of endoplasmic reticulum signaling microdomains // *eLife*. – 2021. – Vol. 10. – P. e65192.

382. Zhou J., Noviello C.M., Teng J., et al. Resolving native GABAA receptor structures from the human brain // *Nature*. – 2025. – Vol. 638. – №. 8050. – P. 562–568.