

УДК 576.32/.36

## ТРИЦИКЛИЧЕСКИЙ АНТИДЕПРЕССАНТ АМИТРИПТИЛИН ПОДАВЛЯЕТ $Ca^{2+}$ -ОТВЕТЫ В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ КРЫСЫ

© 2024 г. Л. С. Миленина<sup>1, \*</sup>, З. И. Крутецкая<sup>1, \*\*</sup>, В. Г. Антонов<sup>2</sup>, Н. И. Крутецкая<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биофизики Санкт-Петербургского государственного университета,  
Санкт-Петербург, 199034, Россия

<sup>2</sup>Кафедра биохимии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета,  
Санкт-Петербург, 194100, Россия

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

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

Поступила в редакцию 11.10.2023 г.

После доработки 01.11.2023 г.

Принято к публикации 07.11.2023 г.

Амитриптилин относится к трициклическим антидепрессантам, широко используемым в клинической практике для терапии тревожно-депрессивных состояний и хронической боли. Эти препараты оказывают многогранное влияние на клеточные процессы. Одной из их мишеней служат рецепторы сигма-1 — молекулярные шапероны, расположенные в мембране эндоплазматического ретикула. Им свойственна уникальная структура и фармакологический профиль. Рецепторы сигма-1 регулируют многие клеточные процессы в норме и патологии, в том числе процессы  $Ca^{2+}$ -сигнализации. С использованием флуоресцентного  $Ca^{2+}$ -зонда Fura-2AM впервые показано, что агонист рецепторов сигма-1 антидепрессант амитриптилин существенно подавляет как мобилизацию  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных  $Ca^{2+}$ -депо, так и последующий депозависимый вход  $Ca^{2+}$  в клетки, вызываемые ингибиторами эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз тапсигаргином и циклопязониковой кислотой, а также дисульфидсодержащими иммуномодуляторами глутоксимом и моликсаном, в перитонеальных макрофагах крысы. Результаты указывают на участие рецепторов сигма-1 в вызываемом глутоксимом или моликсаном комплексном сигнальном каскаде, приводящем к увеличению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Данные свидетельствуют также об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депозависимого входа  $Ca^{2+}$  в макрофагах.

**Ключевые слова:** амитриптилин, рецептор сигма-1, перитонеальные макрофаги, внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+}$

**Принятые сокращения:**  $[Ca^{2+}]_i$  — внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+}$ , ЦПК — циклопязониковая кислота.

**DOI:** 10.31857/S0041377124020069, **EDN:** RJYORG

Амитриптилин — (5-(3-диметиламинопропилиден)-10,11-дигидродибензоциклопентен) — один из основных представителей трициклических антидепрессантов, широко используемых в клинической практике для терапии тревожно-депрессивных состояний (Gillman, 2007; Данилов, 2019) и различных видов хронической боли (невралгии, диабетические нейропатии и др.) (Rico-Villademoros et al., 2015; Lawson, 2017; Belinskaia et al., 2019; Cardoso et al., 2022). Известно многогранное влияние этих антидепрессантов на клеточные процессы.

Разнообразие эффектов амитриптилина, как и других трициклических антидепрессантов, может быть обусловлено его амфифильными свойствами. Подобно другим амфифильным веществам, он эффективно проникает через мембраны, при этом

может встраиваться в обогащенный анионными липидами (в первую очередь, фосфоинозитидами) внутренний монослой мембраны (Oruch et al., 2010). Поэтому амитриптилин может участвовать в регуляции процессов сигнализации и внутриклеточного транспорта. Так, выявлено сродство антидепрессантов к рецепторам сигма-1 (Weber et al., 1986; Narita et al., 1996; Fishback et al., 2010; Hayashi et al., 2011; Wang et al., 2016, 2022).

Рецепторы сигма-1, имеющие уникальную историю, структуру и фармакологию, регулируют множество клеточных процессов, как в норме, так и при патологии (Rousseaux, Greene, 2016; Su et al., 2016; Schmidt, Kruse, 2019; Pergolizzi et al., 2023). Эти рецепторы — многофункциональные молекулярные шапероны, располагающиеся в мембране

эндоплазматического ретикулаума в участках, граничащих с митохондриями (Su et al., 2010; Delprat et al., 2020; Aishwarya et al., 2021; Munguia-Galaviz et al., 2023). Кроме того, они могут транслоцироваться к плазмалемме и взаимодействовать с другими рецепторами и ионными каналами, а также встречаются в ядерной оболочке, где участвуют в регуляции транскрипции (Su et al., 2016). Рецепторы сигма-1 экспрессируются в широком спектре клеток, в том числе иммунных (Penke et al., 2018; Pergolizzi et al., 2023).

Одним из уникальных свойств рецепторов сигма-1 является их чрезвычайно широкий фармакологический профиль. К числу лигандов этих рецепторов относятся соединения, различающиеся и по химической структуре, и по механизму действия на клетки: антидепрессанты (флувоксамин, флуоксетин, сертралин, имипрамин, amitриптилин), нейролептики (галоперидол, хлорпромазин), анальгетики (пентазоцин), анксиолитики (афобазол), противосудорожные (фенитоин), противокашлевые (декстрометорфан, карбетапентан) и антигистаминные (хлорфенамин) препараты, наркотические средства (метамфетамин и кокаин) и препараты, применяемые при лечении нейродегенеративных заболеваний (амантадин, мемантин, донепезил) (Werling et al., 2007; Cobos et al., 2008; Chu, Ruoho, 2016; Voronin et al., 2020).

Взаимодействуя с белками-мишенями, рецепторы сигма-1 регулируют многие клеточные процессы в норме и патологии, в том числе процессы  $Ca^{2+}$ -сигнализации (Schmidt, Kruse, 2019; Pontisso, Combettes, 2021). В плазмалемме рецепторы сигма-1 взаимодействуют с потенциалзависимыми  $Ca^{2+}$ -,  $Na^{+}$ - и  $K^{+}$ -каналами, протон-активируемыми ионными каналами (ASICs),  $Ca^{2+}$ -проницаемыми каналами TRPA1, TRPV1 и TRPM8, NMDA-рецепторами, рецепторами, связанными с G-белками (мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами,  $\mu$ -опиоидными и D1- и D2-дофаминовыми рецепторами), рецепторными тирозинкиназами и другими белками-мишенями (Su et al., 2010, 2016; Ortiz-Renteria et al., 2018; Cortés-Montero et al., 2019; Morales-Lázaro et al., 2019; Schmidt, Kruse, 2019; Munguia-Galaviz et al., 2023).

В мембране эндоплазматического ретикулаума рецептор сигма-1 взаимодействует с рецептором инозитол-1,4,5-трифосфата 3-го типа, другим молекулярным шапероном белком BiP (binding immunoglobulin protein) (Hayashi, Su, 2007) и  $Ca^{2+}$ -сенсором белком STIM1 (Srivats et al., 2016). Известно, что взаимодействие рецепторов сигма-1

с рецепторами инозитол-1,4,5-трифосфата регулирует обе фазы  $Ca^{2+}$ -ответа: мобилизацию  $Ca^{2+}$  из депо (Hayashi et al., 2000; Wu, Bowen, 2008) и вход  $Ca^{2+}$  из наружной среды (Hayashi, Su, 2007; Pontisso, Combettes, 2021). Показано также, что рецепторы сигма-1 задействованы и в регуляции депозависимого входа  $Ca^{2+}$  в клетки различных типов (Brailoiu et al., 2016; Srivats et al., 2016).

Ранее нами было впервые показано, что лиганды сигма-1 рецепторов типичные нейролептики первого поколения галоперидол (производное бутирофенона) (Крутецкая и др., 2017, 2018) и производные фенотиазина хлорпромазин и трифлуоперазин (Миленина и др., 2022) существенно подавляют в перитонеальных макрофагах крысы обе фазы  $Ca^{2+}$ -ответов, вызываемых двумя типами агентов: дисульфидсодержащими иммуномодуляторами глутоксимом® (динатриевая соль окисленного глутатиона с d-металлом в наноконцентрации) и моликсаном® (комплекс глутоксима и нуклеозида инозина), а также ингибиторами эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз тапсигаргином и циклопьязониковой кислотой (ЦПК).

Для подтверждения участия рецепторов сигма-1 в регуляции процессов  $Ca^{2+}$  сигнализации в макрофагах, а также с учетом важной роли рецепторов сигма-1 в патогенезе депрессивных состояний (Voronin et al., 2020; Wang et al., 2022) представлялось целесообразным исследовать влияние агониста сигма-1 рецепторов – трициклического антидепрессанта amitриптилина (Villard et al., 2011; Rousseaux, Greene, 2016; Wang et al., 2016; Penke et al., 2018) – на  $Ca^{2+}$ -ответы, индуцируемые глутоксимом и моликсаном, а также тапсигаргином и ЦПК в перитонеальных макрофагах крысы. Это и стало предметом нашего исследования.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

**Выделение и культивирование перитонеальных макрофагов крыс.** Эксперименты выполнены на культивируемых резидентных перитонеальных макрофагах крыс линии Wistar. Содержание животных и все манипуляции выполняли в соответствии с нормативными документами и требованиями приказа Минздрава России от 19.06.2003 № 267 “Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации”. Макрофаги выделяли из перитонеальной полости крыс по традиционному методу (Conrad, 1981). Масса крыс составляла 180–250 г. Непосредственно после выделения клетки имели сферическую форму (диаметр

10–20 мкм). Суспензию макрофагов помещали в бакпечатки с кварцевыми стеклами размером 10×10 мм и культивировали 1–3 сут при температуре 37 °С в среде 199 (рН 7.2). Среда содержала 20% сыворотки крови быка, глутамин (3%), пенициллин (100 ед/мл) и стрептомицин (100 мг/мл). Тест на  $\alpha$ -нафтилэстеразу показывал, что как минимум 96% клеток в монослоях являются макрофагами (Monahan et al., 1981).

Эксперименты проводили через 1–2 сут после начала культивирования клеток при температуре (22–24 °С). Экспериментальную камеру заполняли физиологическим раствором следующего ионного состава (мМ): 140 NaCl, 5 KCl, 1 CaCl<sub>2</sub>, 1 MgCl<sub>2</sub> и 5 НЕРЕС-NaOH, рН 7.3–7.4. В случае использования бескальциевой среды раствор содержал 0 мМ CaCl<sub>2</sub> и 1 мМ ЭГТА. Кварцевые стекла с клетками размещали в экспериментальной камере.

**Измерение внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>).** Использовали флуоресцентный зонд Fura-2AM (Sigma-Aldrich, США). Клетки помещали в физиологический раствор, содержащий 2 мкМ Fura-2AM и инкубировали в течение 45 мин при 22–24 °С. Затем стекла с окрашенными клетками переносили в экспериментальную камеру флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Германия). Флуоресценцию объекта возбуждали через объектив микроскопа при длинах волн 340 и 380 нм. Соответствующие участки спектра выделяли при помощи узкополосных оптических фильтров. Эмиссию регистрировали при длине волны 510 нм при помощи специализированной видеокамеры Leica DFC340FX. Управление экспериментом проводили с применением системы обработки изображений ImageJ (плагин Micro-Manager 1.4).

Результатом измерений служило отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2AM при облучении светом с длиной волны 340 нм к интенсивности флуоресценции при облучении светом с длиной волны 380 нм ( $F_{340}/F_{380}$ ), отражающее изменения [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> в клетках во время измерений (Xie et al., 2002). Измерения проводили через каждые 20 с, облучая объект в течение 2 с, чтобы избежать фотовыгорания. Использовали объектив 10× с апертурой 8 мм. Значения [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> рассчитывали по уравнению Гринкевича (Grynkiewicz et al., 1985).

Для статистического анализа применяли *t*-критерий Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Каждая регистрация получена для группы 40–50

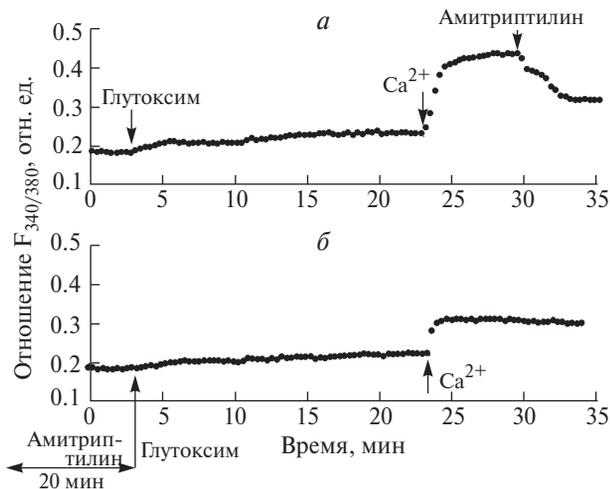
клеток. На рисунках приведены результаты однотипных экспериментов из 6–8 независимых. Достоверными считали различия при  $P \leq 0.05$ .

**Использованы реактивы** производства фирмы Sigma-Aldrich (США). Маточные растворы Fura-2AM (1 мМ), ЦПК (10 мМ) и тапсигаргина (0.5 мМ) готовили в диметилсульфоксиде. Препараты глутоксим и моликсан предоставлены фирмой “ФАРМА-ВАМ” (Санкт-Петербург). Маточные растворы глутоксима (50 мг/мл), амитриптилина (20 мг/мл) и моликсана (50 мг/мл) готовили в воде.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние амитриптилина на Ca<sup>2+</sup>-ответы, индуцируемые дисульфидсодержащими иммуномодуляторами.** Глутоксим и моликсан – фармакологические аналоги окисленного глутатиона – применяются как цитопротекторы и иммуномодуляторы при лечении вирусных, бактериальных, а также онкологических заболеваний (Борисов и др., 2001; Антушевич и др., 2013; Толстой и др., 2019). Известно, что они влияют на процессы редокс-регуляции в клетках, однако биофизический механизм их действия выяснен не полностью. Исследования минувших лет показали, что моликсан может быть полезен при лечении или профилактике коронавирусной инфекции COVID-19, поскольку ускоряет переход заболевания в более легкую форму (Dubina et al., 2021). Ранее (Курилова и др., 2008, 2012) мы впервые обнаружили, что глутоксим и моликсан вызывают в перитонеальных макрофагах крыс двухфазный Ca<sup>2+</sup>-ответ – мобилизацию Ca<sup>2+</sup> из тапсигаргин-чувствительных Ca<sup>2+</sup>-депо и последующий депозависимый вход Ca<sup>2+</sup>.

В контрольных экспериментах было обнаружено, что 20-минутная инкубация макрофагов в бескальциевой среде со 100 мкг/мл глутоксима (рис. 1а) или 100 мкг/мл моликсана (рис. 2а) сопровождается медленно нарастающим увеличением [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, отражающим мобилизацию Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных Ca<sup>2+</sup>-депо. В среднем через 20 мин после введения глутоксима или моликсана [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> возрастала от базального уровня 90 ± 18 нМ до 150 ± 19 нМ ( $n = 6$ ;  $P < 0.05$ ) для глутоксима и 158 ± 20 нМ ( $n = 6$ ;  $P < 0.05$ ) для моликсана. При последующем добавлении в наружную среду 2 мМ Ca<sup>2+</sup> наблюдали дальнейшее повышение [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, соответствующее депо-зависимому входу Ca<sup>2+</sup> в макрофаги (рис. 1, 2). Повышение [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>

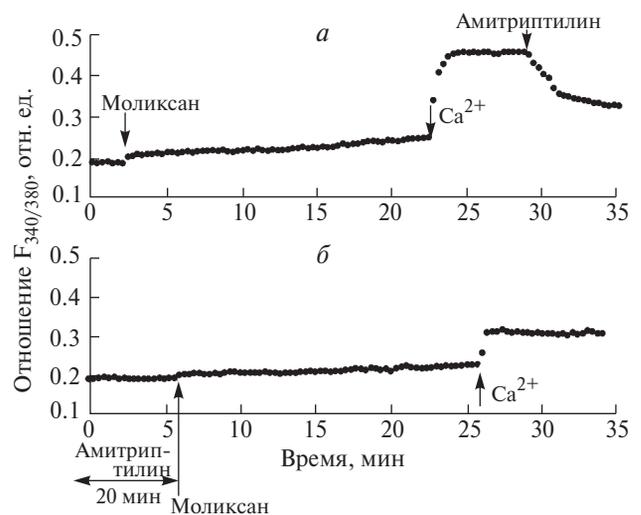


**Рис. 1.** Влияние амитриптилина на увеличение  $[Ca^{2+}]_i$ , вызываемое глутоксимом в перитонеальных макрофагах крысы. Здесь и на рис. 2–4 по оси ординат – отношение интенсивностей флуоресценции Fura-2AM при длинах волн возбуждающего излучения 340 и 380 нм ( $F_{340}/F_{380}$ ); *a* – макрофаги инкубировали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

во время входа  $Ca^{2+}$  составило в среднем  $382 \pm 32$  ( $n = 6$ ;  $P < 0.05$ ) для глутоксима и  $394 \pm 34$  нМ ( $n = 6$ ;  $P < 0.05$ ) для моликсана.

Впервые показано, что 20-минутная преинкубация макрофагов с 20 мкг/мл амитриптилина вызывала существенное подавление индуцированных 100 мкг/мл глутоксима мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо (на  $39.6 \pm 9.2\%$ ,  $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ) и депозависимого входа  $Ca^{2+}$  в макрофаги (на  $46.3 \pm 10.1\%$ ,  $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ) (см. рис. 1б). Аналогичные результаты получены в экспериментах по влиянию 20 мкг/мл амитриптилина на  $Ca^{2+}$ -ответы, индуцированные 100 мкг/мл моликсана (см. рис. 2б). Так, амитриптилин вызывал подавление мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо на  $46.8 \pm 8.2\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ) и подавление депозависимого входа  $Ca^{2+}$  в клетки на  $55.4 \pm 9.0\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ), индуцированных моликсаном.

Кроме того, нами было показано, что добавление 40 мкг/мл амитриптилина во время индуцированного глутоксимом (рис. 1а) или моликсаном (рис. 2а) развившегося входа  $Ca^{2+}$ , существенно

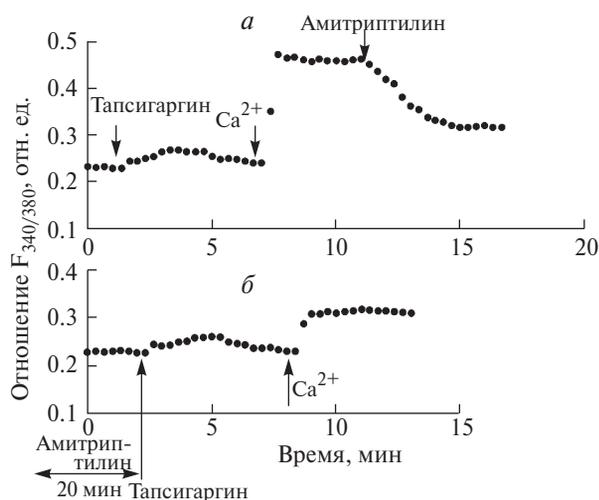


**Рис. 2.** Влияние амитриптилина на увеличение  $[Ca^{2+}]_i$ , вызываемое моликсаном в перитонеальных макрофагах крысы: *a* – макрофаги инкубировали в течение 20 мин в присутствии 100 мкг/мл моликсана в номинально бескальциевой среде, затем вход  $Ca^{2+}$  инициировали введением в наружную среду 2 мМ  $Ca^{2+}$ ; на фоне развившегося входа  $Ca^{2+}$  добавляли 40 мкг/мл амитриптилина; *б* – макрофаги, находящиеся в бескальциевой среде, инкубировали в течение 20 мин с 20 мкг/мл амитриптилина, затем добавляли 100 мкг/мл моликсана, через 20 мин вход  $Ca^{2+}$  инициировали введением в наружную среду 2 мМ  $Ca^{2+}$ .

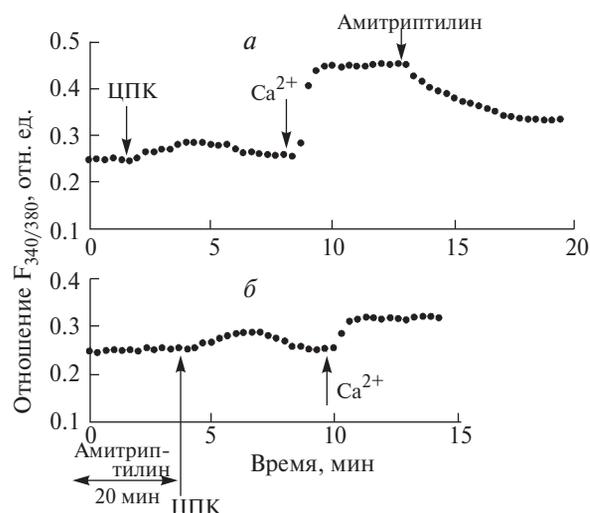
(на  $67.8 \pm 15.0\%$ ,  $n = 12$ ;  $P < 0.05$ ) подавляет депозависимый вход  $Ca^{2+}$  в макрофаги.

**Влияние амитриптилина на  $Ca^{2+}$ -ответы, индуцируемые ингибиторами эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз.** В контрольных экспериментах было показано, что 0.5 мкМ тапсигаргина, добавленного к макрофагам в бескальциевой среде, вызывает небольшое повышение  $[Ca^{2+}]_i$  относительно базального уровня (в среднем на  $35 \pm 9$  нМ,  $n = 10$ ;  $P < 0.05$ ). Это повышение опосредовано мобилизацией  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных  $Ca^{2+}$ -депо (рис. 3а). При дальнейшем добавлении в наружную среду 2 мМ  $Ca^{2+}$  наблюдался депозависимый вход  $Ca^{2+}$  в макрофаги (рис. 3а). Повышение  $[Ca^{2+}]_i$  во время входа  $Ca^{2+}$  составило в среднем  $175.1 \pm 23.2$  нМ ( $n = 10$ ;  $P < 0.05$ ). При использовании 10 мкМ ЦПК (рис. 4а) получены аналогичные результаты: мобилизация  $Ca^{2+}$  из депо составила в среднем  $29.8 \pm 9.2$  нМ ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ), а вход  $Ca^{2+}$  в макрофаги –  $143.3 \pm 21.4$  нМ ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ) (рис. 4а).

Впервые обнаружено, что преинкубация клеток с 20 мкг/мл амитриптилина в бескальциевой в течение 20 мин среде приводит к подавлению обеих фаз  $Ca^{2+}$ -ответов, индуцированных 0.5 мкМ тапсигаргина (см. рис. 3б). Подавление мобилизации  $Ca^{2+}$  из депо было  $21.3 \pm 5.1\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ),



**Рис. 3.** Влияние amitриптилина на Ca<sup>2+</sup>-ответы, индуцируемые тапсигаргином в перитонеальных макрофагах крысы: *a* – макрофаги стимулировали 0.5 мкМ тапсигаргина в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca<sup>2+</sup> инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca<sup>2+</sup>; на фоне развившегося входа Ca<sup>2+</sup> добавляли 40 мкг/мл amitриптилина; *б* – макрофаги предварительно инкубировали в течение 20 мин с 20 мкг/мл amitриптилина в бескальциевой среде, затем добавляли 0.5 мкМ тапсигаргина, после чего вход Ca<sup>2+</sup> инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca<sup>2+</sup>.



**Рис. 4.** Влияние amitриптилина на Ca<sup>2+</sup>-ответы, индуцируемые циклопязониковой кислотой (ЦПК) в перитонеальных макрофагах крысы: *a* – макрофаги стимулировали 10 мкМ ЦПК в номинально бескальциевой среде, затем вход Ca<sup>2+</sup> инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca<sup>2+</sup>; на фоне развившегося входа Ca<sup>2+</sup> добавляли 40 мкг/мл amitриптилина; *б* – макрофаги предварительно инкубировали в течение 20 мин с 20 мкг/мл amitриптилина в бескальциевой среде, затем добавляли 10 мкМ ЦПК, после чего вход Ca<sup>2+</sup> инициировали введением в наружную среду 2 мМ Ca<sup>2+</sup>.

а депозависимого входа Ca<sup>2+</sup> –  $47.9 \pm 11.4\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ). При использовании 10 мкМ ЦПК были получены аналогичные результаты (рис. 4б). Amitриптилин вызывал подавление мобилизации Ca<sup>2+</sup> из депо на  $20.6 \pm 6.2\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ) и депо-зависимого входа Ca<sup>2+</sup> – на  $42.9 \pm 10.4\%$  ( $n = 7$ ;  $P < 0.05$ ). Это указывает на участие рецепторов сигма-1 в активации индуцируемого ингибиторами эндоплазматических Ca<sup>2+</sup>-АТФаз депо-зависимого входа Ca<sup>2+</sup> в макрофагах.

Показано также, что введение 40 мкг/мл amitриптилина во время индуцированного тапсигаргином (см. рис. 3а) или ЦПК (см. рис. 4а) развившегося входа Ca<sup>2+</sup> значительно (на  $50.5 \pm 14.3\%$ ,  $n = 12$ ;  $P < 0.05$ ) подавляет депо-зависимый вход Ca<sup>2+</sup> в макрофаги. Это свидетельствовало об участии рецепторов сигма-1 в поддержании депо-зависимого входа Ca<sup>2+</sup> в макрофаги.

Таким образом, нами впервые показано, что агонист рецепторов сигма-1, трициклический антидепрессант amitриптилин, подавляет в перитонеальных макрофагах обе фазы Ca<sup>2+</sup>-ответов, индуцируемых глутоксимом или моликсаном, а также тапсигаргином и ЦПК. Полученные данные соотносятся с результатами других исследователей.

Так, было обнаружено, что amitриптилин ингибирует мобилизацию Ca<sup>2+</sup> из депо и депо-зависимый вход Ca<sup>2+</sup>, индуцируемые АТФ или тапсигаргином, в клетках лейкоза человека (линия HL-60) (Harper, Daly, 1999). Показано также, что агонист рецепторов сигма-1 кокаин подавляет вызываемый тапсигаргином депо-зависимый вход Ca<sup>2+</sup> в эндотелиальных клетках сосудов мозга крыс (Brailoiu et al., 2016), а соединение (+)-SKF-10047 – также агонист сигма-1 рецепторов – ингибирует индуцируемые тапсигаргином мобилизацию Ca<sup>2+</sup> из депо и депо-зависимый вход Ca<sup>2+</sup> в ооцитах китайского хомячка и клетках эмбриональной почки человека (линия HEK 293) (Srivats et al., 2016).

Известно также, что amitриптилин ингибирует потенциалзависимые Ca<sup>2+</sup>-каналы в клетках различных типов. Так, он делает это в синапсах мозга крысы (Lavoie et al., 1990), обратимо и дозозависимо блокирует потенциалзависимые Ca<sup>2+</sup>-каналы L-типа (Cav1.2) в миоцитах желудочка сердца крысы (Zahradnik et al., 2008), нейронах переднего мозга крысы (Bang et al., 2021) и нейронах тройничного ганглия мыши (Wu et al., 2012), а также Ca<sup>2+</sup>-каналы N-типа (Cav2.2) в клетках нейробластомы (линия SH-SY5Y) (Cardoso et al., 2022).

Другой агонист рецепторов сигма-1 – соединение (+)-SKF-10047 – подавляет вход  $Ca^{2+}$ , вызываемый KCl, и дозозависимо блокирует  $Ca^{2+}$ -каналы L-типа (Cav1.2) в ганглиозных клетках сетчатки крысы (линия RGC-5) (Tchedre et al., 2008). Агонисты рецепторов сигма-1 (соединения SKF-10047 и Pre-084) ингибируют также  $Ca^{2+}$ -каналы N-типа (Cav2.2) в нейронах стриатума крысы (Zhang et al., 2017). Кроме того, специфический агонист рецепторов сигма-1 – наркотический анальгетик (+)-пентазоцин – модулирует все биофизические характеристики потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов N-, L-, P/Q- и R-типов в симпатических и парасимпатических нейронах крысы: обратимо и дозозависимо уменьшает пиковую амплитуду токов, ускоряет кинетику инактивации и сдвигает потенциал-зависимость активации и инактивации в сторону отрицательных потенциалов (Zhang, Cuevas, 2002).

Амитриптилин также блокирует вход  $Ca^{2+}$  по каналам NMDA-рецептора (Stepanenko et al., 2019, 2022) и каналам TRPC4 в клетках эмбриональной почки человека (линия НЕК 293) и миоцитах толстой кишки мыши (Jeong et al., 2022).

Результаты нынешней и более ранних работ (Крутецкая и др., 2017, 2018; Миленина и др., 2022) о подавлении лигандами сигма-1 рецепторов  $Ca^{2+}$ -ответов, вызываемых глутоксимом и моликсаном в макрофагах, свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в индуцированном глутоксимом или моликсаном сигнальном каскаде, приводящем к увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  в перитонеальных макрофагах крыс. Итоги указывают также, что использование в клинической практике препаратов глутоксим или моликсан совместно с амитриптилином нежелательно.

Кроме того, полученные данные свидетельствуют об участии рецепторов сигма-1 в регуляции депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$ , вызываемого как дисульфидсодержащими иммуномодуляторами, так и ингибиторами эндоплазматических  $Ca^{2+}$ -АТФаз в перитонеальных макрофагах крыс, что позволяет рассматривать рецепторы сигма-1 как новый регуляторный компонент сигнального комплекса депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Рецепторы сигма-1 могут оказывать влияние на депо-зависимый вход  $Ca^{2+}$ , регулируя связывание основных компонентов комплекса депо-зависимого входа  $Ca^{2+}$  – белков STIM1 в мембране эндоплазматического ретикулума и Orai1 в плазмалемме (Srivats et al., 2016).

Результаты могут также способствовать более детальному пониманию молекулярных механизмов

фармакологического действия трициклических антидепрессантов. Кроме того, полученные данные могут быть полезны для терапии заболеваний, связанных с нарушением функционирования рецепторов сигма-1. Так, известно, что изменения субклеточной локализации, экспрессии и сигнальных функций таких рецепторов приводят к развитию широкого ряда заболеваний человека (Aishwarya et al., 2021; Pergolizzi et al., 2023). Выявлено участие этих рецепторов в патофизиологии заболеваний нейropsychиатрических (шизофрении, тревожных расстройств, депрессивных состояний и деменции) (Tsai et al., 2014; Ren et al., 2022; Salaciak, Pytko, 2022), нейродегенеративных (болезней Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона, бокового амиотрофического склероза) (Ryskamp et al., 2019; Penke et al., 2018; Yang et al., 2019; Herrando-Grabulosa et al., 2020; Zhemkov et al., 2021; Bogár et al., 2022; Lachance et al., 2023; Malar et al., 2023), онкологических (Kim, Maher, 2017; Pontisso, Combettes, 2021), сердечно-сосудистых (Munguia-Galaviz et al., 2023), а также болевых синдромов (Merlos et al., 2017a, 2017b) и ретинопатий (Smith et al., 2018). Это позволило рассматривать рецепторы сигма-1 как перспективные фармакологические мишени для терапии этих заболеваний.

В последнее время изучается также возможная роль сигма-1 рецепторов в патофизиологии коронавирусной инфекции (COVID-19). Присутствуют данные, указывающие на то, что рецепторы сигма-1 могут стать одной из терапевтических мишеней при лечении коронавирусной инфекции (Vela, 2020; Hashimoto, 2021). Предполагают, что эти рецепторы модулируют механизмы адаптивного стрессового ответа клеток-хозяев и участвуют в ранних стадиях репликации вируса. Так, показано, что белок NSP6 вируса SARS-CoV-2 взаимодействует с рецепторами сигма-1, играющими важную роль в регуляции стресса эндоплазматического ретикулума (Gordon et al., 2020).

Многие лекарства, перепрофилированные для лечения пациентов с COVID-19, являются лигандами рецепторов сигма-1. К их числу относятся амитриптилин и другие антидепрессанты (Vela, 2020; Hashimoto, 2021). Есть данные, что катионные амфифильные соединения, к которым относят трициклические антидепрессанты, имеют противовирусную активность и подавляют вход и репликацию РНК вирусов (Gitahy Falcao Faria et al., 2021). Так, показано, что трициклические антидепрессанты амитриптилин и имипрамин имеют значительную антивирусную активность, сильно

связываются с S-белком вирусов SARS-CoV-2 и MERS-CoV и ингибируют репликацию SARS-CoV-2 и MERS-CoV в клетках обезьяны (линия VeroE6) (Kutkat et al., 2022). Другой агонист сигма-1 рецепторов, антидепрессант флувоксамин, модулирует эндоцитоз S-белка вируса SARS-CoV-2 в клетках эмбриональной почки человека (линии HEK 293) (Glebov, 2021).

Клинические испытания показали, что использование антидепрессантов на ранних стадиях заболевания COVID-19 значительно снижает смертность и уменьшает риск необходимости искусственной вентиляции легких у пациентов с COVID-19 (Hashimoto et al., 2022; Mahdi et al., 2022; Mas et al., 2022; Zheng et al., 2022). Полагают, что наиболее перспективным препаратом среди антидепрессантов является агонист рецепторов сигма-1 флувоксамин (Hashimoto et al., 2021, 2022; Sukhatme et al., 2021).

Обнаружено также, что другой агонист рецепторов сигма-1 антидепрессант флуоксетин ингибирует SARS-CoV-2 (Zimniak et al., 2021; Fred et al., 2022) и прошел клинические испытания в качестве препарата для терапии пациентов с COVID-19, снижает смертность и уменьшает риск необходимости искусственной вентиляции легких у пациентов с COVID-19 (Hoertel et al., 2021).

Одним из основных симптомов при тяжелом респираторном синдроме у пациентов, перенесших COVID-19, является головная боль. Клинические исследования 905 пациентов с COVID-19 показали эффективность amitriptилина в терапии пациентов с постковидными головными болями, включая мигрень (Gonzalez-Martinez et al., 2022).

Кроме того, показано, что amitriptилин предотвращал заражение вирусом SARS-CoV-2 клеток аденокарциномы человека (линия Caco-2), а лечение добровольцев amitriptилином в низкой концентрации предотвращало заражение S-белком вируса SARS-CoV-2 свежeweделенных назальных эпителиальных клеток человека (Carpinteiro et al., 2020).

Известно также, что вирусы, включая SARS-CoV-2, выработали механизмы нарушения Ca<sup>2+</sup> гомеостаза клеток-хозяев и увеличивают [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, поскольку Ca<sup>2+</sup> необходим для проникновения вируса в клетку, для его репликации, созревания и освобождения (Zhou et al., 2009; Chen et al., 2019; Jamison et al., 2022). В связи с этим предотвращение вызванного вирусом увеличения [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> путем ингибирования каналов кальциевого выброса в мембране эндоплазматического ретикулума (рецепторов инозитол-1,4,5-трифосфата и риано-

диноновых рецепторов) или каналов входа Ca<sup>2+</sup> в плазмалемму (потенциалзависимых и депо-зависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов) является одним из подходов в терапии вирусных инфекций (Chen et al., 2019).

Так, обнаружено, что блокаторы потенциалзависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов нифедипин и амлодипин снижают смертность и уменьшают риск необходимости искусственной вентиляции легких у пожилых пациентов с COVID-19 и гипертензией (Solaimanzadeh, 2020; Zhang et al., 2020). Показано также, что внутривенное введение пациентам с тяжелой пневмонией при COVID-19 блокатора депо-зависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов соединения Аухога стабилизирует эндотелий легких и ингибирует выделение провоспалительных цитокинов, тем самым существенно облегчая и ускоряя выздоровление пациентов (Miller et al., 2020; Berlansky et al., 2022).

Таким образом, результаты нашей работы о подавлении агонистом рецепторов сигма-1 amitriptилином обеих фаз Ca<sup>2+</sup>-ответов, индуцируемых дисульфидсодержащими иммуномодуляторами и ингибиторами эндоплазматических Ca<sup>2+</sup>-АТФаз в перитонеальных макрофагах крысы, дополнительно подтверждают многогранность эффектов трициклических антидепрессантов и свидетельствуют в пользу их терапевтического потенциала, как лигандов рецепторов сигма-1.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансирована за счет средств бюджета Санкт-Петербургского государственного университета и Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, а также договора СПбГУ на выполнение научно-исследовательских работ № 05/03-20 от 12.03.2020. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным исследованием получено не было.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с Руководством Национального института здравоохранения по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антушевич А.А., Антонов В.Г., Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е., Ладанова Т.В., Бурова Е.Б. 2013. Патофизиологические основы эффективности глутоксима как средства сопровождения лучевой терапии рака ротоглотки. Вестник Рос. военно-мед. акад. Т. 3. № 43. С. 32. (Antushevich A.A., Antonov V.G., Grebenyuk A.N., Antushevich A.E., Ladanova T.V., Burova E.B. 2013. Pathophysiological rationale of effectiveness of glutoxim supportive therapy add-on to radiotherapy management of oropharyngeal cancer. Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii. V. 3. № 43. P. 32.)
- Борисов А.Е., Кожемякин Л.А., Антушевич А.Е., Кетлицкая О.С., Кащенко В.А., Чепур С.В., Кацалуха В.В., Васюкова Е.Л., Новиченков А.О., Мотушук И.Е. 2001. Клинико-экспериментальное обоснование регионального и системного введения препаратов группы тиопеоинов при циррозе печени. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. Т. 4. № 2. С. 32. (Borisov A.E., Kozhemyakin L.A., Antushevich A.E., Ketskikaya O.S., Kashchenko V.A., Chepur S.V., Katsalucha V.V., Vasyukova E.L., Novichenkov A.O., Motushchuk I.E. 2001. Clinical and experimental grounds of the regional and systemic administration of the thiopoeitin group medicines for cirrhosis of the liver. First communication. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. V. 4. № 2. P. 32.)
- Данилов Д.С. 2019. 70-летняя история трициклических антидепрессантов. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Т. 119. № 12. С. 115. (Danilov D.S. 2019. 70-year history of tricyclic antidepressants. S.S. Korsakov. J. Neurol. Psychiatry. V. 119. № 12. P. 115.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д. 2017. Антагонист рецепторов сигма-1 галоперидол подавляет  $Ca^{2+}$ -ответы в макрофагах, вызываемые глутоксимом и моликсаном. Доклады Академии наук. Т. 472. № 6. С. 723. (Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D. 2017. Sigma-1 receptor antagonist haloperidol attenuates  $Ca^{2+}$  responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. Doklady Biochem. Biophys. V. 472. P. 74.)
- Крутецкая З.И., Миленина Л.С., Наумова А.А., Бутов С.Н., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д. 2018. Антагонист рецепторов сигма-1 галоперидол подавляет депо-зависимый вход  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Доклады Академии наук. Т. 480. № 5. С. 613. (Krutetskaya Z.I., Milenina L.S., Naumova A.A., Butov S.N., Antonov V.G., Nozdrachev A.D. 2018. Sigma-1 receptor antagonist haloperidol attenuates store-dependent  $Ca^{2+}$  entry in macrophages. Doklady Biochem. Biophys. V. 480. P. 162.)
- Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Антонов В.Г. 2008. Влияние окисленного глутатиона и его фармакологического аналога препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Цитология. Т. 50. № 5. С. 452. (Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Antonov V.G. 2008. The effect of oxidized glutathione and its pharmacological analogue glutoxim on intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in macrophages. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 2. P. 322.)
- Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. 2012. Участие актинового цитоскелета в действии препаратов глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию  $Ca^{2+}$  в макрофагах. Цитология. Т. 54. № 2. С. 135. (Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Krutetskaya N.I., Antonov V.G. 2012. The involvement of actin cytoskeleton in glutoxim and molixan effect on intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in macrophages. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 6. № 3. P. 240.)
- Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Антонов В.Г., Крутецкая Н.И. 2022. Лиганды рецепторов сигма-1 хлорпромазин и трифлуоперазин подавляют  $Ca^{2+}$ -ответы в перитонеальных макрофагах крысы. Цитология. Т. 64. № 1. С. 58. (Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Antonov V.G., Krutetskaya N.I. 2022. Sigma-1 receptor ligands chlorpromazine and trifluoperazine attenuate  $Ca^{2+}$  responses in rat peritoneal macrophages. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 16. № 3. P. 233.)
- Толстой О.А., Цыган В.Н., Климов А.Г., Степанов А.В., Антушевич А.Е. 2019. Экспериментальная оценка эффективности препарата моликсан по восстановлению работоспособности вирусинфицированных лабораторных животных. Известия Рос. военно-мед. акад. Т. 38. № 1. С. 271. (Tolstoy O.A., Tsygan V.N., Klimov A.G., Stepanov A.V., Antushevich A.E. 2019. Experimental evaluation of the efficiency of the drug molixan on restoring the operation of virus-infected laboratory animals. Bull. Russ. Military Med. Acad. V. 38. № 1. P. 271.)
- Aishwarya R., Abdullah C.S., Morshed M., Remex N.S., Bhuiyan M.S. 2021. Sigmar1's molecular, cellular, and biological functions in regulating cellular pathophysiology. Front. Physiol. V. 12. P. 705575. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.705575>
- Bang E., Tobery A., Montgomery K.S., Fincher A.S., Earnest D.J., Murchison D.A. Griffith W.H. 2021. Amitriptyline decreases GABAergic transmission in basal forebrain neurons using an optogenetic model of aging. Front. Aging Neurosci. V. 13. P. 673155. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.673155>
- Belinskaia D.A., Belinskaia M.A., Barygin O.I., Vanchakova N.P., Shestakova N.N. 2019. Psychotropic drugs for the management of chronic pain and itch. Pharmaceuticals. V. 12. P. 99. <https://doi.org/10.3390/ph12020099>
- Berlansky S., Sallinger M., Grabmayr H., Humer C., Bernhard A., Fahrner M., Frischauf I. 2022. Calcium signals during SARS-CoV-2 infection: assessing the potential of emerging therapies. Cells. V. 11. P. 253. <https://doi.org/10.3390/cells11020253>
- Bogár F., Fülöp L., Penke B. 2022. Novel therapeutic target for prevention of neurodegenerative diseases: modulation of neuroinflammation with Sig-1R ligands. Biomolecules. V. 12. P. 363. <https://doi.org/10.3390/biom12030363>
- Brailoiu G.C., Deliu E., Console-Bram L.M., Soboloff J., Abood M.E., Unterwald E.M., Brailoiu E. 2016. Cocaine inhibits store-operated  $Ca^{2+}$  entry in brain microvascular endothelial cells: critical role for sigma-1 receptors. Biochem. J. V. 473. P. 1.

- Cardoso F.C., Schmit M., Kuiper M.J., Lewi R.J., Tuck K.L., Duggan P.J. 2022. Inhibition of N-type calcium ion channels by tricyclic antidepressants – experimental and theoretical justification for their use for neuropathic pain. *RSC Med. Chem.* V. 13. P. 183.
- Carpinteiro A., Edwards M.J., Hoffmann M., Kochs G., Gripp B., Weigang S., Adams C., Carpinteiro E., Gulbins A., Keitsch S., Sehl C., Soddemann M., Wilker B., Kamler M., Bertsch T. et al. 2020. Pharmacological inhibition of acid sphingomyelinase prevents uptake of SARS-CoV-2 by epithelial cells. *Cell Rep. Med.* V. 1. P. 100142. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100142>
- Chen X., Cao R., Zhong W. 2019. Host calcium channels and pumps in viral infections. *Cells.* V. 9. P. 94. <https://doi.org/10.3390/cells9010094>
- Chu U.B., Ruoho A.E. 2016. Biochemical pharmacology of the sigma-1 receptor. *Mol. Pharmacol.* V. 89. P. 142.
- Cobos E.J., Entrena J.M., Nieto F.R., Cendán C.M., Del Pozo E. 2008. Pharmacology and therapeutic potential of sigma (1) receptor ligands. *Curr. Neuropharmacol.* V. 6. P. 344.
- Conrad R. E. 1981. Induction and collection of peritoneal exudate macrophages. In: *Manual of macrophages methodology.* New York: Marcell Dekker. P. 5.
- Cortés-Montero E., Sánchez-Blázquez P., Onetti Y., Merlos M., Garzón J. 2019. Ligands exert biased activity to regulate sigma 1 receptor interactions with cationic TRPA1, TRPV1 and TRPM8 channels. *Front. Pharmacol.* V. 10. P. 634. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00634>
- Delprat B., Crouzier L., Su T.-P., Maurice T. 2020. At the crossing of ER stress and MAMs: A key role of sigma-1 receptor? *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 1131. P. 699.
- Dubina M.V., Gomonova V.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V., Sayganov S.A. 2021. Pathogenesis-based pre-exposure prophylaxis associated with low risk of SARS-CoV-2 infection in healthcare workers at a designated COVID-19 hospital: a pilot study. *BMC Infect. Dis.* V. 21. P. 536. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06241-1>
- Fishback J.A., Robson M.J., Xu Y.-T., Matsumoto R.R. 2010. Sigma receptors: potential targets for a new class of antidepressant drugs. *Pharmacol. Ther.* V. 127. P. 271.
- Fred S.M., Kuivanen S., Ugurlu H., Casarotto P.C., Levanov L., Saksela K., Vapalahti O., Castrén E. 2022. Antidepressant and antipsychotic drugs reduce viral infection by SARS-CoV-2 and fluoxetine shows antiviral activity against the novel variants in vitro. *Front. Pharmacol.* V. 12. P. 755600. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.755600>
- Gillman P.K. 2007. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br. J. Pharmacol.* V. 151. P. 737.
- Gitahy Falcao Faria C., Weiner L., Petriguet J., Hingray C., Ruiz De Pellon Santamaria A., Villoutreix B.O., Beaune P., Leboyer M., Javelot H. 2021. Antihistamine and cationic amphiphilic drugs, old molecules as new tools against the COVID-19? *Med. Hypotheses.* V. 148. P. 110508. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110508>
- Glebov O.O. 2021. Low-dose fluvoxamine modulates endocytic trafficking of SARS-CoV-2 spike protein: A potential mechanism for anti-COVID-19 protection by antidepressants. *Front. Pharmacol.* V. 12. P. 787261. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.787261>
- Gonzalez-Martinez A., Guerrero-Peral A.L., Arias-Rivas S., Silva L., Sierra A., Gago-Veiga A.B., Garcia-Azorin D. 2022. Amitriptyline for post-COVID headache: effectiveness, tolerability, and response predictors. *J. Neurol.* V. 269. P. 5702.
- Gordon D.E., Jang G.M., Bouhaddou M. Xu J., Obernier K., White K. M., O'Meara M.J., Rezelj V.V., Guo J.Z., Swaney D.L., Tummino T.A., Hüttenhain R., Kaake R.M., Richards A.L., Tutuncuoglu B., Foussard H. et al. 2020. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature.* V. 583. P. 459.
- Gryniewicz G., Poenie M., Tsien R.Y. 1985. A new generation of Ca<sup>2+</sup> indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* V. 260. P. 3440.
- Harper J.L., Daly J.W. 1999. Inhibitors of store-operated calcium channels: imidazoles, phenothiazines, and other tricyclics. *Drug Dev. Res.* V. 47. P. 107.
- Hashimoto K. 2021. Repurposing of CNS drugs to treat COVID-19 infection: targeting the sigma-1 receptor. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* V. 271. P. 249.
- Hashimoto Y., Suzuki T., Hashimoto K. 2021. Old drug fluvoxamine, new hope for COVID-19. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* V. 272. P. 161.
- Hashimoto Y., Suzuki T., Hashimoto K. 2022. Mechanisms of action of fluvoxamine for COVID-19: a historical review. *Mol. Psychiatry.* V. 27. P. 1898.
- Hayashi T., Maurice T., Su T.-P. 2000. Ca<sup>2+</sup> signaling via  $\sigma$ 1-receptors: novel regulatory mechanism affecting intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* V. 293. P. 788.
- Hayashi T., Su T.-P. 2007. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival. *Cell.* V. 131. P. 596.
- Hayashi T., Tsai S.-Y., Mori T., Fujimoto M., Su T.-P. 2011. Targeting ligand-operated chaperone sigma-1 receptors in the treatment of neuropsychiatric disorders. *Expert Opin. Ther. Targets.* V. 15. P. 557.
- Herrando-Grabulosa M., Gaja-Capdevila N., Vela J.M., Navarro X. 2020. Sigma 1 receptor as a therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis. *Br. J. Pharmacol.* V. 178. P. 1336.
- Hoertel N., Sánchez-Rico M., Vernet R., Beeker N., Jannot A.-S., Neuraz A., Salamanca E., Paris N., Daniel C., Gramfort A., Lemaître G., Bernaux M., Bellamine A., Lemogne C., Airagnes G., et al. 2021. Association between antidepressant use and reduced risk of intubation or death in hospitalized patients with COVID-19: results from an observational study. *Mol. Psychiatry.* V. 26. P. 5199.
- Jamison D.A., Narayanan S.A., Trovão N.S., Guarnieri J.W., Topper M.J., Moraes-Vieira P.M., Zaksas V., Singh K.K., Wurtele E.S., Beheshti A. 2022. A comprehensive SARS-CoV-2 and COVID-19 review, part 1: intracellular overdrive for SARS-CoV-2 infection. *Eur. J. Human Genetics.* V. 30. P. 889.
- Jeong B., Sung T.S., Jeon D., Park K.J., Jun J.Y., So I., Hong Ch. 2022. Inhibition of TRPC4 channel activity in colonic myocytes by tricyclic antidepressants disrupts

- colonic motility causing constipation. *J. Cell Mol. Med.* V. 26. P. 4911.
- Kim F.J., Maher C.M. 2017. Sigma1 pharmacology in the context of cancer. *Handb. Exp. Pharmacol.* V. 244. P. 237.
- Kutkat O., Moatasim Y., Al-Karmalawy A.A., Abulkhair H.S., Goma M.R., El-Taweel A.N., Abo Shama N.M., GabAllah M., Mahmoud D.B., Kayali G., Ali M.A., Kandeil A., Mostafa A. 2022. Robust antiviral activity of commonly prescribed antidepressants against emerging coronaviruses: in vitro and in silico drug repurposing studies. *Sci. Rep.* V. 12. P. 12920. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17082-6>
- Lachance V., Bélanger S.-M., Hay C., Le Corvec V., Banouvang V., Lapalme M., Tarmoun K., Beaucaire G., Lussier M.P., Kourrich S. 2023. Overview of sigma-1R subcellular specific biological functions and role in neuroprotection. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24. P. 1971.
- Lavoie P.A., Beauchamp G., Elie R. 1990. Tricyclic antidepressants inhibit voltage-dependent calcium channels and  $\text{Na}^+$ – $\text{Ca}^{2+}$  exchange in rat brain cortex synaptosomes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* V. 68. P. 1414.
- Lawson K. 2017. A brief review of the pharmacology of amitriptyline and clinical outcomes in treating fibromyalgia. *Biomedicines.* V. 5. P. 24.
- Mahdi M., Hermán L., Réthelyi J.M., Bálint B.L. 2022. Potential role of the antidepressant's fluoxetine and fluvoxamine in the treatment of COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* V. 23. P. 3812.
- Malar D.S., Thitilertdech P., Ruckvongacheep K.S., Brimson S., Tencomnao T., Brimson J.M. 2023. Targeting sigma receptors for the treatment of neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *CNS Drugs.* V. 37. P. 399.
- Mas M., García-Vicente J.A., Estrada-Gelonch A., Pérez-Mañá C., Papaseit E., Torrens M., Farré M. 2022. Antidepressant drugs and COVID-19: a review of basic and clinical evidence. *J. Clin. Med.* V. 11. P. 4038.
- Merlos M., Burgueño J., Portillo-Salido E., Plata-Salamán C.R., Vela J.M. 2017a. Pharmacological modulation of the sigma 1 receptor and the treatment of pain. *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 964. P. 85.
- Merlos M., Romero L., Zamanillo D., Plata-Salamán C., Vela J.M. 2017b. Sigma-1 receptor and pain. *Handb. Exp. Pharmacol.* V. 244. P. 131.
- Miller J., Bruen C., Schnaus M., Zhang J., Ali S., Lind A., Stoecker Z., Stauderman K., Hebbar S. 2020. Auxora versus standard of care for the treatment of severe or critical COVID-19 pneumonia: results from a randomized controlled trial. *Crit. Care.* V. 24. P. 502. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03220-x>
- Monahan R.A., Dvorak H.F., Dvorak A.M. 1981. Ultrastructural localization of nonspecific esterase activity in guinea pig and human monocytes, macrophages and lymphocytes. *Blood.* V. 58. P. 1089.
- Morales-Lázaro S.L., González-Ramírez R., Rosenbaum T. 2019. Molecular interplay between the sigma-1 receptor, steroids, and ion channels. *Front. Pharmacol.* V. 10. P. 419. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00419>
- Munguia-Galaviz F.J., Miranda-Diaz A.G., Cardenas-Sosa M.A., Echavarría R. 2023. Sigma-1 receptor signaling: in search of new therapeutic alternatives for cardiovascular and renal diseases. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24. P. 1997.
- Narita N., Hashimoto K., Tomitaka S.-I., Minabe Y. 1996. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of  $\sigma$  receptors in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* V. 307. P. 117.
- Ortiz-Rentería M., Juárez-Contreras R., González-Ramírez R., Islas L.D., Sierra-Ramírez F., Llorente I., Simon S.A., Hiriart M., Rosenbaum T., Morales-Lázaro S.L. 2018. TRPV1 channels and the progesterone receptor Sig-1R interact to regulate pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 115. P. E1657.
- Oruch R., Lund A., Pryme I.F., Holmsen H. 2010. An intercalation mechanism as a mode of action exerted by psychotropic drugs: results of altered phospholipid substrate availabilities in membranes? *J. Chem. Biol.* V. 3. P. 67.
- Penke B., Fulop L., Szucs M., Frecska E. 2018. The role of sigma-1 receptor, an intracellular chaperone in neurodegenerative diseases. *Curr. Neuropharmacol.* V. 16. P. 97.
- Pergolizzi J., Varrassi G., Coleman M., Frank Breve F., Christo D.K., Christo P.J., Moussa Ch. 2023. The sigma enigma: a narrative review of sigma receptors. *Cureus.* V. 15. P. e35756.
- Pontisso I., Combettes L. 2021. Role of sigma-1 receptor in calcium modulation: possible involvement in cancer. *Genes.* V. 12. P. 139.
- Ren P., Wang J., Li N., Li G., Ma H., Zhao Y., Li Y. 2022. Sigma-1 receptors in depression: mechanism and therapeutic development. *Front. Pharmacol.* V. 13. P. 925879. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.925879>
- Rico-Villademoros F., Slim M., Calandre E.P. 2015. Amitriptyline for the treatment of fibromyalgia: a comprehensive review. *Expert. Rev. Neurother.* V. 15. P. 1123.
- Rousseaux C.G., Greene S.F. 2016. Sigma receptors ( $\sigma$ R): biology in normal and diseased states. *J. Recept. Signal Transduct.* V. 36. P. 327.
- Ryskamp D.A., Korban S., Zhemkov V., Kraskovskaya N., Bezprozvanny I. 2019. Neuronal sigma-1 receptors: signaling functions and protective roles in neurodegenerative diseases. *Front. Neurosci.* V. 13. P. 862.
- Sałaciak K., Pytka K. 2022. Revisiting the sigma-1 receptor as a biological target to treat affective and cognitive disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* V. 132. P. 1114.
- Schmidt H.R., Kruse A.C. 2019. The molecular function of  $\sigma$  receptors: past, present, and future. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 40. P. 636.
- Smith S. B., Wang J., Cui X., Mysona B.A., Zhao J., Bollinger K.E. 2018. Sigma 1 receptor: a novel therapeutic target in retinal disease. *Prog. Retin Eye Res.* V. 67. P. 130.
- Solaimanzadeh I. 2020. Nifedipine and amlodipine are associated with improved mortality and decreased risk for intubation and mechanical ventilation in elderly patients hospitalized for COVID-19. *Cureus.* V. 12. P. e8069.
- Srivats S., Balasuriya D., Pasche M., Vistal G., Edwardson J.M., Taylor C.W., Murrell-Lagnado R.D. 2016. Sigma 1 receptors inhibit store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry by attenuating coupling of STIM1 to Orai1. *J. Cell Biol.* V. 213. P. 65.

- Stepanenko Y.D., Boikov S.I., Sibarov D.A., Abushik P.A., Vanchakova N.P., Belinskaia D., Shestakova N.N., Antonov S.M. 2019. Dual action of amitriptyline on NMDA receptors: enhancement of Ca-dependent desensitization and trapping channel block. *Sci. Reports*. V. 9. P. 19454. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56072-z>
- Stepanenko Y.D., Sibarov D.A., Shestakova N.N., Antonov S.M. 2022. Tricyclic antidepressant structure-related alterations in calcium-dependent inhibition and open-channel block of NMDA receptors. *Front. Pharmacol.* V. 12. P. 815368. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.815368>
- Su T.-P., Hayashi T., Maurice T., Buch S., Ruoho A.E. 2010. The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 31. P. 557.
- Su T.-P., Su T.-C., Nakamura Y., Tsai S.-Y. 2016. The sigma-1 receptor as a pluripotent modulator in living systems. *Trends Pharmacol. Sci.* V. 37. P. 262.
- Sukhatme V.P., Reiersen A.M., Vayttaden S.J., Sukhatme V.V. 2021. Fluvoxamine: a review of its mechanism of action and its role in COVID-19. *Front. Pharmacol.* V. 12. P. 652688. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.652688>
- Tchedre K.T., Huang R.Q., Dibas A., Krishnamoorthy R.R., Dillon G.H., Yorio T. 2008. Sigma-1 receptor regulation of voltage-gated calcium channels involves a direct interaction. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* V. 49. P. 4993.
- Tsai S.-Y., Pokrass M.J., Klauer N.R., De Credico N.E., Su T.-P. 2014. Sigma-1 receptor chaperones in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Expert Opin. Ther. Targets*. V. 18. P. 1461.
- Vela J.M. 2020. Repurposing sigma-1 receptor ligands for COVID-19 therapy? *Front. Pharmacol.* V. 11. P. 582310. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.582310>
- Villard V., Meunier J., Chevallier N., Maurice T. 2011. Pharmacological interaction with the sigma-1 ( $\sigma_1$ )-receptor in the acute behavioral effects of antidepressants. *J. Pharmacol. Sci.* V. 115. P. 279.
- Voronin M.V., Vakhitova Y.V., Seredenin S.B. 2020. Chaperone Sigma1R and antidepressant effect. *Int. J. Mol. Sci.* V. 21. P. 7088. <https://doi.org/10.3390/ijms21197088>
- Wang Y., Guo L., Jiang H.-F., Zheng L.-T., Zhang A., Zhen X.-C. 2016. Allosteric modulation of sigma-1 receptors elicits rapid antidepressant activity. *CNS Neurosci. Therap.* V. 22. P. 368.
- Wang Y.-M., Xia C.-Y., Jia H.-M., He J., Lian W.-W., Yan Y., Wang W.-P., Zhang W.-K., Xu J.-K. 2022. Sigma-1 receptor: a potential target for the development of antidepressants. *Neurochem. International*. V. 159. P. 105390. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105390>
- Weber E., Sonders M., Quarum M., McLean S., Pou S., Keana J.F.W. 1986. 1,3-Di(2-[5-3H]tolyl)guanidine: a selective ligand that labels sigma-type receptors for psychotomimetic opiates and antipsychotic drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 83. P. 8784.
- Werling L.L., Keller A., Frank J.G., Nuwayhid S.J. 2007. A comparison of the binding profiles of dextromethorphan, memantine, fluoxetine and amitriptyline: treatment of involuntary emotional expression disorder. *Exp. Neurol.* V. 207. P. 248.
- Wu Z., Bowen W.D. 2008. Role of sigma-1 receptor c-terminal segment in inositol 1,4,5-trisphosphate receptor activation. Constitutive enhancement of calcium signaling in mcf-7 tumor cells. *J. Biol. Chem.* V. 283. P. 28198.
- Wu W., Ye Q., Wang W., Yan L., Wang Q., Xiao H., Wan Q. 2012. Amitriptyline modulates calcium currents and intracellular calcium concentration in mouse trigeminal ganglion neurons. *Neurosci. Lett.* V. 506. P. 307.
- Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J.A. 2002. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitative calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem.* V. 277. P. 16559.
- Yang K., Wang C., Sun T. 2019. The roles of intracellular chaperone proteins, sigma receptors, in Parkinson's disease (PD) and major depressive disorder (MDD). *Front. Pharmacol.* V. 10. P. 528.
- Zahradník I., Minarovič I., Zahradníková A. 2008. Inhibition of the cardiac L-Type calcium channel current by antidepressant drugs. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* V. 324. P. 977.
- Zhang H., Cuevas J. 2002. Sigma receptors inhibit high-voltage-activated calcium channels in rat sympathetic and parasympathetic neurons. *J. Neurophysiol.* V. 87. P. 2867.
- Zhang L.-K., Sun Y., Zeng H., Wang Q., Jiang X., Shang W.-J., Wu Y., Li Sh., Zhang Y.-L., Hao Z.-N., Chen H., Jin R., Liu W., Li H., Peng K., Xiao G. 2020. Calcium channel blocker amlodipine besylate therapy is associated with reduced case fatality rate of COVID-19 patients with hypertension. *Cell Discovery*. V. 6. P. 96.
- Zhang K., Zhao Z., Lan L., Wei X., Wang L., Liu X., Yan H., Zheng J. 2017. Sigma-1 receptor plays a negative modulation on N-type calcium channel. *Front. Pharmacol.* V. 8. P. 302.
- Zhemkov V., Geva M., Hayden M.R., Bezprozvanny I. 2021. Sigma-1 receptor (S1R) interaction with cholesterol: mechanisms of S1R activation and its role in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 4082.
- Zheng W., Sun H.-L., Cai H., Zhang Q., Ng C.H., Xiang Y.-T. 2022. Antidepressants for COVID-19: a systematic review. *J. Affective Disorders*. V. 307. P. 108.
- Zhou Y., Freyb T.K., Yanga J.J. 2009. Viral calciomics: interplays between Ca<sup>2+</sup> and virus. *Cell Calcium*. V. 46. P. 1.
- Zimniak M., Kirschner L., Hilpert H., Geiger N., Danov O., Oberwinkler H., Steinke M., Sewald K., Seibel J., Bodem J. 2021. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine inhibits SARS-CoV-2 in human lung tissue. *Sci. Rep.* V. 11. P. 5890. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85049-0>

## TRICYCLIC ANTIDEPRESSANT AMITRIPTYLINE ATTENUATES $\text{Ca}^{2+}$ RESPONSES IN RAT PERITONEAL MACROPHAGES

L. S. Milenina<sup>a, \*</sup>, Z. I. Krutetskaya<sup>a, \*\*</sup>, V. G. Antonov<sup>b</sup>, N. I. Krutetskaya<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Chair of Biophysics, St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034, Russia

<sup>b</sup>Chair of Biochemistry, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, 194100, Russia

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

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

Amitriptyline is a tricyclic antidepressant widely used in clinical practice for the treatment of anxiety, depression and chronic pain. These drugs have a multifaceted effect on cellular processes. One of their targets is sigma-1 receptors. Sigma-1 receptors are molecular chaperones located in endoplasmic reticulum membrane; they are characterized by a unique structure and pharmacological profile. Sigma-1 receptors regulate many cellular processes in health and disease, including  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. Using Fura-2AM microfluorimetry, it was shown for the first time that sigma-1 receptor agonist, antidepressant amitriptyline, significantly suppresses both  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization from intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -stores and subsequent store-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  entry into cells, induced by endoplasmic  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase inhibitors thapsigargin and cyclopiazonic acid, as well as disulfide-containing immunomodulators glutoxim and molixan, in rat peritoneal macrophages. The results suggest the involvement of sigma-1 receptors in a complex signaling cascade induced by glutoxim or molixan, leading to an increase of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in macrophages. The results also indicate the participation of sigma-1 receptors in the regulation of store-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  entry in macrophages.

**Keywords:** amitriptyline, sigma-1 receptor, peritoneal macrophage, intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration