

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-8-3-7
© Коллектив авторов, 2019

Е. В. Абрамова*, М. В. Воронин, С. Б. Середенин

АНАЛИЗ СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ СИГМА-1 РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-СТРЕССОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ АНКСИОЛИТИКА АФОБАЗОЛА

ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская 8.

* e-mail: ryaskinv@mail.ru

Специфическое связывание лиганда сигма-1 рецепторов (Sigma1R) [^3H](+)-пентазоцина в P2 и P3 фракциях гомогенатов головного мозга определяли у инбредных мышей BALB/c и C57Bl/6 после эмоционально-стрессового воздействия в тесте "Открытое поле" (ОП) и аутбредных мышей CD-1 после введения анксиолитика афобазола. Установлено, что экспозиция в ОП увеличивает специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина в P3 фракции гомогенатов головного мозга мышей BALB/c, характеризующихся реакцией замирания в тесте ОП, и не влияет на связывание лиганда у мышей C57Bl/6 с активным поведением в тесте. Афобазол в дозе 5 мг/кг вызывает увеличение специфического связывания [^3H](+)-пентазоцина в P2 фракции гомогенатов головного мозга аутбредных мышей CD-1. Полученные данные свидетельствуют об участии Sigma1R в механизмах формирования реакций на эмоционально-стрессовое воздействие и в фармакодинамике афобазола.

Ключевые слова: афобазол; (+)-пентазоцин; сигма-1 рецептор; эмоционально-стрессовое воздействие; мыши.

Эмоционально-стрессовые воздействия являются этиопатогенетическим фактором многих нервнопсихических и соматических заболеваний [1]. Реакция на стресс у млекопитающих контролируется генетически и зависит от средовых условий [2]. Сходный поведенческий, в эксперименте, или клинически описываемый тревожный фенотип может иметь в своей основе разные патофизиологические механизмы, что *a priori* определяет неодинаковые эффекты используемых в современной практике анксиолитических препаратов [3, 4]. Например, влияние бензодиазепинов, преимущественно анксиолитическое либо седативное, зависит от фенотипа стрессового ответа [5]. Хорошо известно, что эффективность современных лекарственных средств, применяемых для лечения тревоги, в частности ингибиторов обратного захвата серотонина, не превышает 60 % [6 – 8].

Поэтому актуальными остаются задачи поиска новых мишеней для разработки средств профилактики и купирования негативных последствий эмоционально-стрессовых реакций.

Имеются предпосылки рассматривать в качестве такового сигма-1 рецептор (sigma-1 receptor, Sigma1R). К настоящему времени известно, что данный белок выполняет шаперонные функции [9]. Его физиологическое значение и вовлеченность в патофизиологические процессы, в фармакодинамику ряда лекарств, большинство из которых влияют на ЦНС, хорошо охарактеризованы в литературе [10 – 18].

Настоящее исследование предпринято, исходя из представлений о том, что эмоциональный стресс трансформируется в клеточный стресс, следствием которого являются многочисленные внутриклеточные процессы, включающие активацию шаперонов [19]. Основная функция последних — поддержание 3D конформации физиологически важных макромолекул и, с другой стороны, обеспечение деградации и удаление из клетки поврежденных белков [20].

Sigma1R преимущественно локализован в эндоплазматическом ретикулуме, в области, граничащей с митохондриями (МАМ), в комплексе с шапероном Bip (immunoglobulin heavy-chain-binding protein, GRP78). При ЭПР стрессе Sigma1R отделяется от Bip, и при лигандной активации способен к транслокации в область плазматической и ядерной мембран, где и осуществляет шаперонные функции [21]. Шаперон Sigma1R обладает уникальными свойствами благодаря наличию участков специфического связывания, что может определять возможность фармакологической регуляции [22].

В настоящем исследовании выполнены попытки ответить на следующие вопросы.

1. Возникают ли в Sigma1R при эмоционально-стрессовом воздействии изменения, способствующие взаимодействию с лигандами?
2. Какие сдвиги в связывающей способности и в локализации Sigma1R происходят при введении анксио-

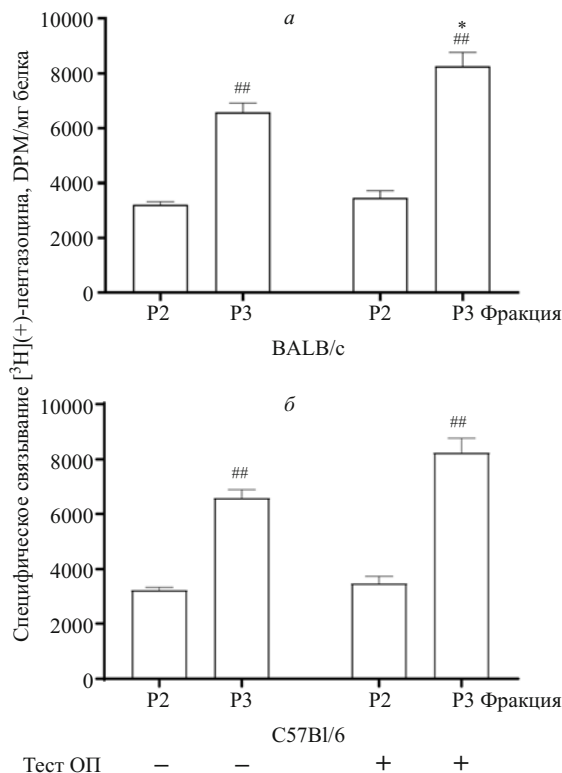


Рис. 1. Специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина в головном мозге мышей BALB/c (а) и C57Bl/6 (б) после эмоционально-стрессового воздействия в тесте ОП. Количество животных в группах слева направо: N(BALB/c) = 14/14, N(C57Bl/6) = 22/10; P2 и P3 — субклеточные фракции гомогенатов головного мозга мышей. Данные представлены в виде Mean \pm SEM. Статистический анализ данных выполнен с использованием критерия Тьюки после Two way-ANOVA, где линии мышей и стресс (эмоционально-стрессовое воздействие в тесте ОП) рассматривались как независимые факторы; * $p < 0,05$ в сравнении с P3 фракцией группы интактных животных (“-”тест ОП); ## $p < 0,001$ в сравнении с P2 фракцией этой же экспериментальной группы. Сравнение между P2 и P3 фракциями проводили с помощью t -теста для зависимых переменных.

литика афобазола, обладающего слабым сродством к Sigma1R?

Для ответа на первый вопрос проведены эксперименты на мышах C57Bl/6 и BALB/c с противоположными фенотипами поведения в тесте “Открытое поле” (ОП) со световой вспышкой. Мыши BALB/c характеризуются выраженной реакцией страха в данном тесте, а мыши C57Bl/6 — устойчивостью к примененному воздействию [23], что позволяет сравнивать изменения Sigma1R, зависящие от фенотипа стрессового ответа.

Эксперименты с афобазолом поставлены на аутбредных мышах для получения картины, не связанной со спецификой, определяемой генотипом.

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали афобазол (5-этоксиди-2-[2-(морфолино)этилтио]бензимидазол дигидрохлорид) (ФГБНУ “Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова”); трис(гидроксиметил)аминометан, сахароза, галоперидол, 1,4-диоксан,

нафталин, альбумин, реагент Фолина, NaOH, 2,5-дифенилоксазол, 1,4-бис(5-фенил-2-оксазолил)бензен, поли(этиленимин) (Sigma-Aldrich, США); [Ring-1,3- ^3H]-(+)-Pentazocine (специфическая активность 29 Ci/mmol) (PerkinElmer, США); $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 (Diam, Россия).

Экспериментальная биологическая часть

В исследовании использовали мышей-самцов инбредных линий C57Bl/6, BALB/c и аутбредной линии CD-1 (НПП Питомник лабораторных животных “Пушчино” ФИБХ РАН) массой 18 – 25 г.

Мыши линий C57Bl/6 и BALB/c были разделены на группы: интактные (“-” тест ОП), тестируемые в ОП (“+” тест ОП). Мыши линии CD-1 были разделены на группы: с внутрибрюшинным введением контрольного раствора (Плацебо) и с внутрибрюшинным введением афобазола (Афобазол). Афобазол растворяли в дистиллированной воде, в качестве контрольного раствора использовали растворитель. Контрольный раствор или афобазол в анксиолитической дозе 5 мг/кг [24] вводили внутрибрюшинно за 30 мин до декапитации из расчета 100 мкл на 10 г массы мыши.

В работе использовали методику освещенного ОП в модификации П. М. Бородина [2]. Перед экспозицией в ОП животное помещали на 1 мин в темную камеру. Перемещение из темноты на ярко освещенную арену ОП является стрессорным фактором для грызунов, основанном на стремлении грызунов избегать ярко освещенного пространства [2]. Время экспозиции животного в ОП составляло 3 мин.

Животных декапитировали методом цервикальной дислокации сразу после извлечения из ОП и через 30 мин после введения афобазола или контрольного раствора.

После декапитации головной мозг извлекали, область переднего, промежуточного и среднего мозга гомогенизировали в 7,5 мл 10 ммоль/л Tris-HCl буфера (Sigma-Aldrich) в присутствии 0,32 моль/л раствора сахарозы (Sigma-Aldrich), (pH = 7,4, $T = 4^\circ\text{C}$) с использованием диспергатора Ultra-Turrax T25 (Janke&Kunkel, IKA-Labortechnik) при 24000 оборотах/мин. Гомогенаты центрифугировали с использованием ультрацентрифуги Optima L-70K (Beckman Coulter) в угловом роторе (Beckman Coulter 70 Ti) при 4°C и $1000 \cdot g$ в течение 10 мин. Полученный супернатант сохраняли, осадок ресуспензировали и повторно центрифугировали при $1000 \cdot g$ в течение 10 мин. Полученные после 2 центрифугирований супернатанты объединяли и центрифугировали при $10000 \cdot g$ в течение 20 мин для выделения P2 фракции. Для получения P3 фракций оставшийся супернатант (S2) центрифугировали при $100000 \cdot g$ в течение 60 мин. В выделенных P2 и P3 фракциях проводили радиолигандное связывание.

Мембранные фракции инкубировали с [Ring-1,3- ^3H]-(+)-Pentazocine (специфическая активность 29 Ci/mmol) в конечной концентрации 1 нМ при 37°C

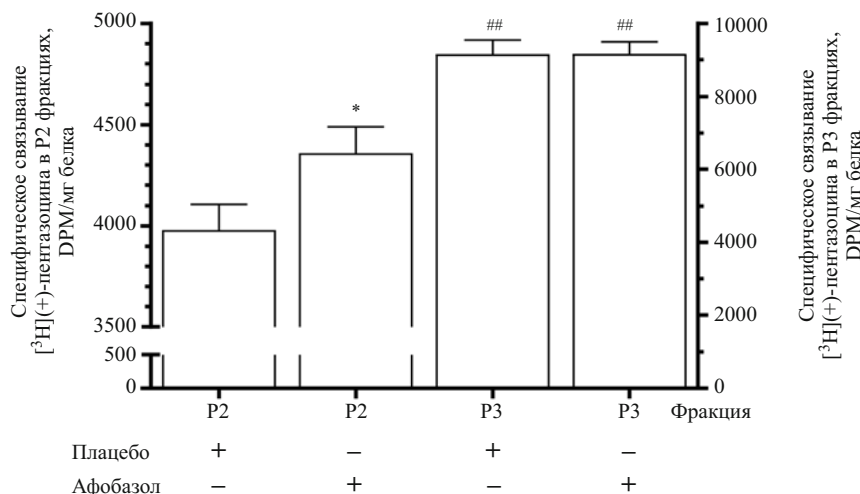


Рис. 2. Специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина в головном мозге мышей CD-1 после введения афобазола. Количество животных в группах: N(Плацебо) = 19, N(Афобазол) = 20; P2 и P3 — субклеточные фракции гомогенатов головного мозга мышей; афобазол вводили внутривентрикулярно в дозе 5 мг/кг за 30 мин до декапитации; данные представлены в виде Mean \pm SEM; статистический анализ данных выполнен с применением *t*-теста; * $p < 0,05$ в сравнении с P2 фракцией группы Плацебо; ## $p < 0,001$ в сравнении с P2 фракцией этой же экспериментальной группы.

120 мин в 50 мМ Tris-HCl (pH = 7,4) буфере объемом 160 мкл. Неспецифическое связывание определяли, добавляя в инкубационную среду галоперидол в конечной концентрации 10 мкМ. Радиолигандное связывание останавливали быстрой фильтрацией под вакуумом через стекловолоконные фильтры GF/B (Whatman), предварительно вымоченные в 0,05 % полиэтиленимине в течение 60 мин. Объем Tris-HCl buffer ($T = 4^\circ\text{C}$, pH 8,0), использованного для фильтрации, составлял 6 мл. Радиоактивность проб измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике Tri Carb 2900TR (Perkin Elmer) в растворе Брея. Специфическое связывание рассчитывали как разницу общего и неспецифического и выражали в DPM (Disintegrations per minute, радиоактивный распад за минуту). Значения DPM нормировали по содержанию белка в пробе.

Концентрацию белка в пробах определяли методом Lowry [25]. Оптическую плотность ($\lambda = 700$ нм) измеряли на спектрофотометре Genesys 10 UV (Thermo electron corporation) для каждой пробы в 3 повторениях.

Статистический анализ данных проводили с применением программного продукта GraphPad Prism version 6.01 for Windows (GraphPad software, San Diego, California, США, www.graphpad.com) и Statistica 6 (StatSoft, inc.). Проверку экспериментальных данных на соответствие нормальному распределению осуществляли с помощью универсального критерия D'Agostino & Pearson. Тест Левена был использован для оценки равенства дисперсии. Т-тест для зависимых переменных был использован для парного сравнения значений специфического связывания радиолиганда между P2 и P3 фракциями в каждой экспериментальной группе. Сравнения между группами проводили с использованием критерия Тьюки после Two way-ANOVA, где в качестве независимых факторов выступали "линии мышей" и "стресс" (эмоционально-стрессовое воздействие в тесте ОП). Данные

представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего (Mean \pm SEM).

Результаты и их обсуждение

Во всех экспериментальных группах специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина оказалось значительно выше в P3 фракциях гомогенатов головного мозга мышей BALB/c, C57Bl/6 и CD-1 в сравнении с P2 фракциями ($p < 0,001$) (рис. 1, 2).

Эти результаты соответствуют опубликованным в литературе данным радиолигандного анализа Sigma1R в субклеточных фракциях [26 – 29]. Фракции P3 обогащены мембранами ЭПР, в сравнении с P2, содержащими преимущественно фрагменты цитоплазматической мембраны и мембран митохондрий [30]. Установленные в нашем исследовании различия в специфическом связывании [^3H](+)-пентазоцина согласуются с внутриклеточным распределением Sigma1R, охарактеризованным методами вестерн-блот анализа и иммунофлуоресценции в культуре клеток NG-108 [31].

Статистический анализ экспериментальных данных выявил влияние эмоционально-стрессового воздействия в тесте ОП (фактор "стресс") на специфическое связывание [^3H](+)-пентазоцина в P3 фракциях гомогенатов головного мозга в совокупной выборке исследованных животных ($F = 7,695$, $p < 0,01$). Однако при межгрупповом сравнении увеличение рецепции [^3H](+)-пентазоцина в P3 фракции ($p < 0,05$) установлено только для мышей BALB/c. Экспозиция животных C57Bl/6 в ОП к изменениям связывания радиолиганда не приводила (рис. 1).

В избранный для исследования интервал времени фактор "стресс" не влиял на рецепцию [^3H](+)-пентазоцина в P2 фракциях у мышей обеих линий.

Установленные характеристики радиолигандного связывания по межлинейным различиям и по времени возникновения соответствуют динамике ранее выяв-

ленных маркеров реакции страха у мышей BALB/c, таких как падение связывающей способности в бензодиазепином участке ГАМК_A рецептора [3, 32], резкому подъему кортикостерона уже при воздействии handling, не увеличивающемуся после эксперимента в ОП [33] при минимальном увеличении АКТГ [34].

У мышей C57Bl/6, устойчивых к применяемому виду стресса, изменений в рецепторных характеристиках Sigma1R не наблюдали, также как ранее на этой линии не выявлены сдвиги в бензодиазепиновой рецепции [3, 32], а гормональная динамика была более градуирована [33, 34].

Следовательно, можно полагать, что установленные в настоящей работе изменения в рецепторных свойствах Sigma1R в P3 фракциях связаны с реакцией страха и не возникают в ее отсутствии.

Дополнительно следует указать, что у мышей, нокаутных по гену Sigma1R, при стрессе высвобождение АКТГ меньше в равнении с диким типом [35], а агонисты Sigma1R вызывают увеличение содержания АКТГ в плазме крови крыс [36], что также свидетельствует о включении Sigma1R в механизм формирования стрессового ответа.

Полученные в настоящей работе данные соответствуют концепции о роли Sigma1R в развитии адаптивных клеточных реакций при формировании стрессового ответа [19]. Известно, что Sigma1R регулирует продукцию АФК, процессы фолдинга белков в ЭПР (unfolded protein response, UPR) и их дальнейшей деградации протеасомами (ER-associated degradation, ERAD) [11, 37]. В ЭПР Sigma1R колокализуется с шапероном BiP (immunoglobulin heavy-chain-binding protein, GRP78). В условиях ЭПР стресса этот комплекс диссоциирует [21]. Показано, что аминокислотная последовательность Sigma1R, образующая BiP связывающий домен, включает сайт для связывания эндогенных лигандов Sigma1R — нейростероидов, этот же участок связывает и пентазоцин [38, 21, 39]. Таким образом, активация Sigma1R при диссоциации от BiP сопряжена с увеличением доступных для связывания участков, что подтверждается результатами настоящей работы, продемонстрировавшей увеличение связывания пентазоцина при формировании реакции страха. Вероятно, что в физиологических условиях такая активация Sigma1R обеспечивает взаимодействие с нейростероидами, участие которых в механизмах эмоционально-стрессовых реакций хорошо документировано [40 – 43]. С другой стороны, установленный нами феномен указывает на возможность экзогенной фармакологической регуляции Sigma1R с использованием тропных к шаперону лигандов.

В следующей серии опытов данной работы показано, что афобазол, обладающий сродством к Sigma1R [44], увеличивал специфическое связывание [³H](+)-пентазоцина в P2 фракциях гомогенатов головного мозга мышей CD-1 (рис. 2).

Временные интервалы эксперимента не позволяют связывать увеличение рецепции лиганда в P2 фракции

с синтезом шаперона *de novo* [21]. Более вероятно, что полученный результат отражает транслокацию Sigma1R в область цитоплазматической мембраны, что ранее было показано нами в опытах с афобазолом *in vitro* [45] и установлено для других лигандов Sigma1R [31].

Можно полагать, что афобазол способствует осуществлению шаперонных функций Sigma1R, вызывая его транслокацию в область цитоплазматической мембраны, содержащей функционально важные макромолекулы, включенные в механизм формирования стрессового ответа, что определяет роль Sigma1R в фармакодинамике анксиолитика.

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, во-первых, что при формировании ответа на эмоционально-стрессовое воздействие, сопряженного с реакцией страха, связывающая способность Sigma1R увеличивается, и, во-вторых, что введение анксиолитика афобазола имеет следствием повышение рецепции радиолганда Sigma1R в P2 фракции, что косвенно подтверждает транслокацию шаперона в область цитоплазматической мембраны.

В совокупности полученные данные позволяют сделать заключение об участии Sigma1R в механизме формирования реакции страха и в фармакодинамике анксиолитика афобазола.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема 0521-2019-0002) при частичной поддержке программы фундаментальных исследований президиума РАН № 43 “Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций” 2018 – 2020 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. V. Valdmán, *Drug Dependence and Emotional Behavior: Neurophysiological and Neurochemical Approaches.*, Springer US, New York (1986).
2. П. М. Бородин, Л. Шюллер, Д. К. Беляев, *Генетика*, **12**(12), 62 – 71 (1976).
3. S. B. Seredenin, Y. A. Blednov, in: *Biological basis of individual sensitivity to psychotropic drugs: A pharmacogenetic approach to the design of new selective anxiolytic drugs*, Seredenin S. B., et al. (eds.), Graffham Press Ltd (1994), pp. 25 – 38.
4. G. G. Neznamov, V. K. Bochkarev, S. B. Seredenin, in: *Biological basis of individual sensitivity to psychotropic drugs: Individual variability in the effects of single-dose tranquilisers in neurotic patients: clinical, electroencephalographic and prognostic aspects*, Seredenin S. B., et al. (eds.), Graffham Press Ltd. (1994), pp. 151 – 159.
5. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Феназепам. 25 лет в медицинской практике: Фармакогенетическое изучение индивидуальных эффектов феназепам. Перспективные направления оптимизации терапии*, Середенин С. Б. и др. (ред.), Наука, Москва (2007), pp. 278 – 343.
6. E. Offidani, J. Guidi, E. Tomba, et al., *Psychother. Psychosom.*, **82**(6), 355 – 362 (2013).
7. Н. И. Иванец, М. А. Кинкулькина, Т. И. Авдеева и др., *Соц. и клин. психиатрия*, **24**(2), 60 – 71 (2014).
8. C. Locher, H. Koechlin, S. R. Zion, et al., *JAMA Psychiatry*, **74**(10), 1011 – 1020 (2017).
9. T. P. Su, T. C. Su, Y. Nakamura, et al., *Trends Pharmacol. Sci.*, **37**(4), 262 – 278 (2016).

10. E. J. Cobos, J. M. Entrena, F. R. Nieto, et al., *Cur. Neuropharmacol.*, **6**(4), 344 – 366 (2008).
11. L. Nguyen, B. P. Lucke-Wold, S. A. Mookerjee, et al., *J. Pharmacol. Sci.*, **127**(1), 17 – 29 (2015).
12. M. Merlos, J. Burgueno, E. Portillo-Salido, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 85 – 107 (2017).
13. L. Nguyen, B. P. Lucke-Wold, S. Mookerjee, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 133 – 152 (2017).
14. Y. Albayrak, K. Hashimoto, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 153 – 161 (2017).
15. Y. Cai, L. Yang, F. Niu, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 163 – 175 (2017).
16. T. Maurice, N. Gogvadze, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 213 – 233 (2017).
17. R. Mancuso, X. Navarro, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964**, 235 – 254 (2017).
18. T. A. Mavlyutov, E. M. Baker, T. M. Losenegger, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **964** 255 – 265 (2017).
19. T. Hayashi, *Psychiatry Clin. Neurosci.*, **69**(4), 179 – 191 (2015).
20. F. U. Hartl, A. Bracher, M. Hayer-Hartl, *Nature*, **475**(7356), 324 – 332 (2011).
21. T. Hayashi, T. P. Su, *Cell*, **131**(3), 596 – 610 (2007).
22. B. Penke, L. Fulop, M. Szucs, et al., *Cur. Neuropharmacol.*, **16**(1), 97 – 116 (2018).
23. J. C. DeFries, J. P. Hegmann, M. W. Weir, *Science*, **154**(3756), 1577 – 1579 (1966).
24. S. B. Seredenin, T. A. Voronina, G. G. Neznamov, et al., *Vestn. Ros. Akad. Med. Nauk*, № 11, 3 – 9 (1998).
25. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., *J. Biol. Chem.*, **193**(1), 265 – 275 (1951).
26. D. J. McCann, T. P. Su, *Eur. J. Pharmacol.*, **188**(4 – 5), 211 – 218 (1990).
27. A. Cagnotto, A. Bastone, T. Mennini, *Eur. J. Pharmacol.*, **266**(2), 131 – 138 (1994).
28. J. Meunier, B. Demeilliers, A. Celerier, et al., *Behav. Brain Res.*, **166**(1), 166 – 176 (2006).
29. E. J. Cobos, E. del Pozo, J. M. Baeyens, *J. Neurochem.*, **102**(3), 812 – 825 (2007).
30. T. Hayashi, T. P. Su, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(2), 491 – 496 (2001).
31. T. Hayashi, T. P. Su, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**(2), 726 – 733 (2003).
32. M. A. Yarkova, S. B. Seredenin, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **157**(6), 762 – 764 (2014).
33. S. B. Seredenin, B. A. Badyshov, M. M. Nikitina, et al., *Biull. Eksp. Biol. Med.*, **94**(8), 36 – 37 (1982).
34. S. B. Seredenin, I. A. Blednov, B. A. Badyshov, et al., *Biull. Eksp. Biol. Med.*, **95**(3), 81 – 83 (1983).
35. T. Di, S. Zhang, J. Hong, et al., *Front. Mol. Neurosci.*, **10**, 287 (2017).
36. S. Iyengar, S. Mick, V. Dilworth, et al., *Neuropharmacology*, **29**(3), 299 – 303 (1990).
37. A. Tesei, M. Cortesi, A. Zamagni, et al., *Front Pharmacol.*, **9**, 711 (2018).
38. J. L. Ortega-Roldan, F. Ossa, J. R. Schnell, *J. Biol. Chem.*, **288**(29), 21448 – 21457 (2013).
39. S. Brune, D. Schepmann, K. H. Klempnauer, et al., *Biochemistry*, **53**(18), 2993 – 3003 (2014).
40. R. H. Purdy, A. L. Morrow, P. H. Moore, Jr., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**(10), 4553 – 4557 (1991).
41. M. L. Barbaccia, G. Roscetti, M. Trabucchi, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **261**(3), 317 – 320 (1994).
42. A. Urani, F. J. Roman, V. L. Phan, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **298**(3), 1269 – 1279 (2001).
43. T. Higashi, N. Takido, K. Shimada, *Steroids*, **70**(1), 1 – 11 (2005).
44. S. B. Seredenin, M. V. Voronin, *Exp. Clin. Pharmacol.*, **72**(1), 3 – 11 (2009).
45. S. B. Seredenin, T. A. Antipova, M. V. Voronin, et al., *Biull. Eksp. Biol. Med.*, **148**(7), 53 – 55 (2009).

Поступила 25.03.19

ANALYSIS OF SIGMA-1 RECEPTOR BINDING ABILITY UNDER EMOTIONAL STRESS AND UPON ADMINISTRATION OF ANXIOLYTIC AFOBAZOLE

E. V. Abramova,* M. V. Voronin, and S. B. Seredenin

V. V. Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: ryaskinv@mail.ru

Specific binding of sigma-1 receptor (Sigma1R) ligand [³H](+)-pentazocine was determined in P2 and P3 fractions of brain homogenates obtained from inbred BALB/c and C57Bl/6 mice after emotional stress in the open field (OF) test and outbred CD-1 mice after administration of anxiolytic drug afobazole. It was established that the OF exposure led to increase in [³H](+)-pentazocine specific binding to P3 fraction of BALB/c mice brain homogenates, characterized by freezing reaction in the OF test, and did not affect the binding of ligand in C57Bl/6 mice with active behavior in the test. Afobazole in a dose of 5 mg/kg caused an increase in [³H](+)-pentazocine specific binding to P2 fraction in CD-1 mice brain homogenates. The obtained data indicate the involvement of Sigma1R ligand in the mechanisms of emotional stress reactions and in the pharmacodynamics of afobazole.

Keywords: afobazole; (+)-pentazocine; sigma-1 receptor; emotional stress; mice.