

Модуляторы эндогенной каннабиноидной системы как нейропротекторы

Е.Е. Генрихс, М.Ю. Бобров, Е.Л. Андрианова, Н.М. Грецкая, А.А. Лыжин, А.В. Блаженова, Л.Е. Фрумкина, В.В. Безуглов, Л.Г. Хаспеков

Научный центр неврологии РАМН;

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва)

Исследовано защитное действие эндоканнабиноида *N*-арахидоноилдофамина (АДА) в модели апоптоза, индуцированного в культивируемых нейронах мозжечка крысы путем снижения концентрации ионов калия в питательной среде. Показано, что АДА оказывает дозозависимый нейропротекторный эффект. Максимальная выживаемость нейронов, определяемая с помощью МТТ-теста, наблюдалась при концентрации АДА 10 мкМ и составляла 65%. Проведена оценка эффективности использования АДА совместно с ингибитором гидролазы амидов жирных кислот *N*-эйкозапентаеноилсеротонином (ЭС). Сочетание АДА в субмаксимальной концентрации (5 мкМ) с ЭС (10 мкМ) значительно усилило защитный эффект, повышая показатель выживаемости нейронов до 78%. Полученные данные свидетельствуют, что применение АДА совместно с ингибитором фермента его метаболизма позволяет снизить концентрацию нейропротектора, что, наряду с усилением защитного эффекта АДА, способствует уменьшению его возможного побочного действия. Таким образом, сочетанное применение модуляторов эндоканнабиноидной системы — агонистов каннабиноидных рецепторов и ингибиторов метаболизма каннабиноидов — представляется эффективным для защиты нервных клеток от апоптоза.

Ключевые слова: нейропротекция, эндоканнабиноиды, *N*-арахидоноилдофамин, анандамид, гидролаза амидов жирных кислот, апоптоз, клетки-зерна мозжечка

Новая группа ацилдофаминов — *N*-ацилдофамины — была обнаружена в нервной ткани животных сравнительно недавно [17, 12, 13]. Среди этих соединений наиболее активно изучается *N*-арахидоноилдофамин (АДА). К настоящему времени показано, что АДА является лигандом каннабиноидного рецептора 1-го типа [8], а также ванилоидного рецептора 1-го типа [17], в связи с чем АДА считают компонентом эндоканнабиноидной системы.

Основными функциональными звеньями эндогенной каннабиноидной системы (ЭКС), играющей важную физиологическую роль в регуляции работы головного мозга, являются каннабиноидные рецепторы (КР), их эндогенные лиганды, или эндоканнабиноиды, и внутриклеточные ферменты, участвующие в синтезе и утилизации эндоканнабиноидов [5]. К настоящему времени клонированы два типа — КР-КР1 и КР2, которые присутствуют во многих структурах нервной системы [18], а также в других тканях, например, на клетках иммунной системы [19]. Эндоканнабиноиды (ЭК) представляют собой амидные и эфирные производные арахидоновой и ряда других жирных кислот. Наиболее изучаемыми ЭК являются *N*-арахидоноилэтаноламин (анандамид), 2-арахидоноилглицерин, *N*-арахидоноилглицин и *N*-арахидоноилдофамин (рис. 1).

Важным свойством ЭКС является регуляция синаптической передачи. Эндоканнабиноиды, синтезируемые постсинаптическим нейроном в ответ на афферентную стимуляцию, высвобождаются из него и взаимодействуют с КР, локализованными на аксонных терминалях пресинаптического нейрона, что приводит к торможению выброса нейромедиатора. Это свойство ЭКС может иметь большое значение для восстановления нормальной работы

центральных синапсов и поддержания жизнеспособности нейронов в условиях патологии, связанной с нарушениями регуляции их нейромедиаторной функции [5].

Нейропротекторное действие анандамида и 2-АГ при моделировании различных форм патологии головного мозга было продемонстрировано рядом авторов [10, 20, 21, 22]. Однако защитный эффект АДА практически не изучался. В данной работе проводилась оценка защитного действия АДА в модели нейронального апоптоза, индуцированного в культуре нейронов мозжечка крысы путем снижения содержания ионов калия в инкубационной среде (K⁺-депривация).

Серьезным затруднением в реализации защитного действия ЭК является их относительно быстрый гидролиз в клетках и тканях [23]. Поэтому мы предположили, что при-

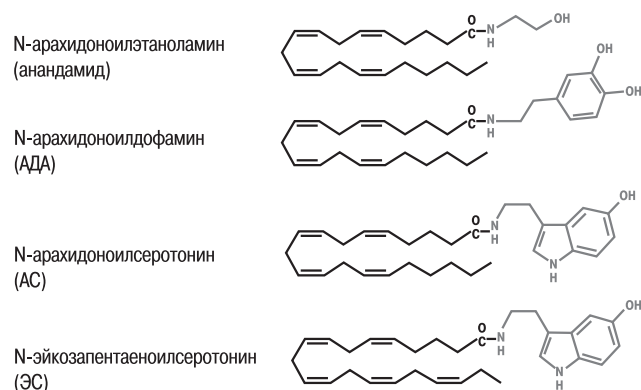


рис. 1: Структуры активных соединений, использованных в данной работе

менение ингибиторов гидролиза ЭК даст возможность усилить нейропротекторное действие и, возможно, снизить их эффективную концентрацию. Ранее нами было показано, что N-арахидоноилсеротонин (АС) является ингибитором основного фермента метаболизма ЭК — гидролазы амидов жирных кислот (ГАЖК) [9]. В данной работе были синтезированы аналоги АС и проверены их ингибиторные свойства. Также на модели нейронального апоптоза были исследованы защитные свойства двухкомпонентных систем, в которых первым компонентом является АДА, а вторым — ингибитор ГАЖК.

Материалы и методы

Реактивы. N-арахидоноилэтанолламин (анандамид), амиды жирных кислот с дофамином и серотонином были синтезированы и охарактеризованы по методикам, описанным авторами ранее [1, 7]. Были синтезированы амиды арахидоновой (C20:4, ω6) кислоты с дофамином, серотонином, триптамином, бромтриптамином и метокситриптамином. Также были получены амиды эйкозапентаеновой (C20:5, ω3), линоленовой (C18:3, ω6), нонановой (C9) кислот с серотонином.

Меченый тритием по этаноламину N-арахидоноилэтанолламин был синтезирован в Институте молекулярной генетики РАН. Удельная радиоактивность [3H]-анандамида составила 20 Ки/ммоль.

Среды и добавки для культивирования клеток (среда Игла, сыворотка новорожденных телят (FBS), глутамин, смесь пенициллина и стрептомицина, раствор трипсина, раствор Версена, раствор HEPES, таблетки фосфатно-солевого буфера (PBS), МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий-бромид) были приобретены в фирме «ПанЭко» (Россия).

Получение мембранного препарата из мозга крысы. Все процедуры проводили при температуре +4° С. Головной мозг крысы измельчали и гомогенизировали в десятикратном объеме буфера (Tris 50 мМ, рН 7,4). Для получения мембранной фракции гомогенат центрифугировали 10 мин при 1000 g, надосадочную жидкость отбирали и центрифугировали 25 мин при 12 000 g. Супернатант удаляли, осадок растворяли в буфере, делили на порции и замораживали в жидком азоте. Содержание белка в мембранном препарате определяли по методу Лоури.

Гидролиз анандамида. Во всех экспериментах раствор мембран в буфере Tris-HCl (50 мМ, рН 7,4) предварительно инкубировали при 37° С в течение 5 мин. Растворы субстрата и ингибиторов в этаноле вносили таким образом, чтобы конечная концентрация этанола составила 5%. Спиртовой раствор субстрата готовили в виде смеси радиоактивного и немеченного анандамида в соотношении 1 : 10. После внесения веществ в препарат мембран смесь перемешивали и инкубировали при 37° С. Через определенные промежутки времени отбирали аликвоты (50–100 мкл). Реакцию останавливали на льду добавлением равного объема суспензии активированного угля в 0,5 М-соляной кислоте (1 : 5), оставляли на 25 мин при комнатной температуре при постоянном перемешивании, далее центрифугировали 5 мин при 1800 g. Порцию надосадка отбирали, радиоактивность измеряли с помощью сцинтилляционного счета. В качестве контроля использовали раствор, не содержащий мембран.

Для определения временной зависимости гидролиза время инкубации устанавливали 60–90 мин. Для определения зависимости скорости гидролиза от концентрации белка в препарате применяли реакцию смеси, содержащую 5–200 мкг/мл белка (восемь концентраций) и 2 мкМ [3H]-анандамида, время инкубации — 30 мин. Для определения зависимости скорости гидролиза от концентрации субстрата использовали реакционную смесь, содержащую 40 мкг/мл белка и 0,78–25 мкМ анандамида. Время инкубации — 30 мин.

Для определения константы Михаэлиса и максимальной скорости гидролиза использовали построения в линеаризации Корниш–Боуден.

Для определения констант ингибирования для каждого соединения использовали четыре двукратных разведения субстрата и потенциального ингибитора. Инкубационная смесь (100 мкл) содержала 40 мкг/мл белка, анандамид (0,75–7 мкМ) и тестируемые соединения в диапазоне концентраций 0,5–50 мкМ. Инкубировали 5 мин, отбирали порцию 50 мкл останавливали реакцию на льду добавлением суспензии активированного угля. После центрифугирования определяли радиоактивность методом сцинтилляционного счета.

Культивирование клеток мозжечка. Для культивирования клеток по описанной ранее методике [6] использовали мозжечок семи- и восьмидневных крыс. После механической и ферментативной диссоциации ткани мозжечка получали клеточную суспензию в среде Игла. Среда содержала 25 мМ KCl, 2 мМ глутамин, 10% инактивированной нагреванием FBS. Клетки вносили в 24-луночный планшет по 500 мкл суспензии на лунку из расчета 2,5 × 10⁵ клеток на 1 см². Дно лунок предварительно покрывали 0,05-процентным раствором полиэтиленэмина. Культивирование проводили при 35° С в воздушной атмосфере с содержанием CO₂ 5%. Культуры нейронов использовали на седьмой-восьмой день инкубации.

Исследование выживаемости нейронов. Нейрональный апоптоз индуцировали снижением содержания K⁺ в инкубационной среде [14]. Для этого исходную среду культивирования отбирали из лунок, оставляя в каждой по 200 мкл. Отобранную среду разбавляли стандартной средой Игла, содержащей 5 мМ K⁺, без сыворотки. Полученная инкубационная среда (ИС) содержала 9 мМ K⁺ и 2% сыворотки и использовалась для приготовления растворов исследуемых соединений. Исходные растворы (250×) разных концентраций соединений готовили разведением в этаноле. Конечные растворы готовили добавлением одинаковых объемов исходных растворов к одинаковым объемам ИС. Для контролей использовали ИС с содержанием K⁺ 9 мМ или 25 мМ, а вместо соединений добавляли соответствующие объемы этанола. Таким образом, содержание растворителя оставалось одинаковым во всех ИС.

Далее оставшуюся в лунках среду культивации удаляли и добавляли контрольные ИС и растворы соединений. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при стандартных условиях в течение 18 часов.

Анализ выживаемости проводили при помощи МТТ-теста. Для этого ИС отбирали, вносили в лунки раствор МТТ (0,45 мг/мл) в фосфатно-солевом буфере и инкубировали 30–40 мин. Затем раствор МТТ удаляли и добавляли в лунки ДМСО. После растворения образовавшегося

ся из МТТ формазана измеряли оптическую плотность при длине волны 570 и 620 нм. Относительную оптическую плотность (А) вычисляли по формуле А570–А620. Расчет относительной жизнеспособности производили по формуле

$$\frac{A_x - A_k}{A_{k+} - A_k} \times 100\%$$

где:

Ах — относительная оптическая плотность в лунках с веществами;

Ак+ и Ак — в контрольных лунках с содержанием К+ в среде 25 мМ и 9 мМ, соответственно.

В указанных условиях эксперимента при понижении концентрации ионов калия в негативном контроле (К+ — 9 мМ) в среднем наблюдалось выживание 50% клеток, по сравнению с положительным контролем (К+ — 25 мМ).

Статистический анализ. При анализе полученных результатов использовали описательные методы статистики (определение средних значений и стандартного отклонения). Достоверность различий оценивали с помощью t-теста Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа с применением апостериорных тестов. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Ингибиторы ГАЖК. Ингибиторные свойства синтезированных соединений изучали в препарате мембран головного мозга крысы. Были определены параметры гидролиза анандамида в используемой тест-системе. Зависимость скорости гидролиза от концентрации субстрата оставалась линейной в диапазоне концентраций 1–5 мкМ при концентрации белка в препарате 20–50 мкг/мл. Начальную скорость гидролиза определяли в течение первых 10–15 мин инкубации. Кажущаяся константа Михаэлиса (Км) в данных условиях составила $3,86 \pm 0,84$ мкМ, что согласуется с данными других исследований [16].

Ранее было установлено, что N-арахидоноил-5-гидрокси триптамин (N-арахидоноилсеротонин, АС), является селективным ингибитором ГАЖК [9, 15]. В данной работе были синтезированы аналоги АС с отличиями в ацильной части молекулы, а также с модификациями в структуре серотонина. Анализ ингибирования гидролиза анандамида N-арахидоноилсеротонином и его аналогами показал, что все тестируемые соединения тормозят гидролиз анандамида в концентрациях до 50 мкМ. Наиболее активным соединением по сравнению с АС оказался N-эйкозапентаеноилсеротонин (ЭС). Аналоги с линоленовой и нонановой кислотами оказались заметно менее активными (табл. 1).

Замена 5-гидроксотриптамина на триптамин приводила к снижению ингибиторной активности в 1,4 раза, метилирование гидроксигруппы практически не влияло на ингибирование. Бромирование триптамина по пятому положению приводило к ослаблению ингибирования в 7,5 раз. Интересно, что арахидоноил триптофан не ингибировал гидролиз анандамида. Поэтому для дальнейших исследований был выбран ЭС как наиболее эффективный ингибитор ГАЖК.

таблица 1: Влияние аналогов арахидоноил-5-гидрокси триптамина на гидролиз анандамида

Соединение	EC ₅₀ , мкМ	Ki
N-арахидоноилсеротонин (АС)	5,2	3,4 ± 0,4
N-эйкозапентаеноилсеротонин (ЭС)	1	1,9 ± 0,1
N-линоленоилсеротонин	7,5	10,5
N-нонаоилсеротонин	39	
N-арахидоилтриптамин	7,5	4,6 ± 0,1
N-арахидоноилбромтриптамин	50	
N-арахидоноилметокситриптамин	6,0	3,7 ± 0,2

Защитное действие нейролипидов. В предварительных экспериментах было показано, что АДА (10 мкМ) не оказывал токсического действия на нейроны в нормальных условиях. Ингибиторы ГАЖК (АС и ЭС) в концентрации 10 мкМ также не оказывали токсического действия в нормальных условиях и не проявляли самостоятельного защитного эффекта в условиях К+-депривации (данные не приведены).

Было установлено, что АДА оказывает дозозависимое защитное действие в диапазоне концентраций до 0,1–10 мкМ (рис. 2). Максимальный защитный эффект наблюдался при концентрации АДА 10 мкМ и составил 65% выживших нейронов.

Первичная оценка эффективности комбинации АДА с ингибитором гидролиза показала, что введение ЭС (10 мкМ) в качестве второго компонента достоверно усиливает защитные свойства АДА, взятого в субмаксимальной концентрации 5 мкМ. Использование АС (10 мкМ) в качестве второго компонента комплекса не приводило к выраженному усиле-

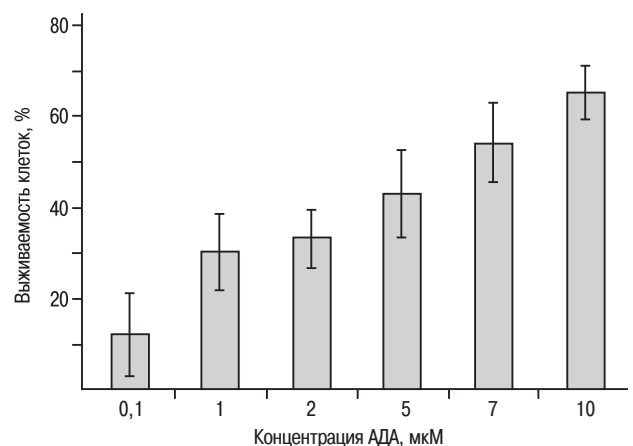


рис. 2: Защитное действие N-арахидоноилдофамина (АДА) в модели нейронального апоптоза, вызванного снижением концентрации ионов калия в среде инкубации. АДА достоверно защищает нейроны при увеличении концентрации ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ)

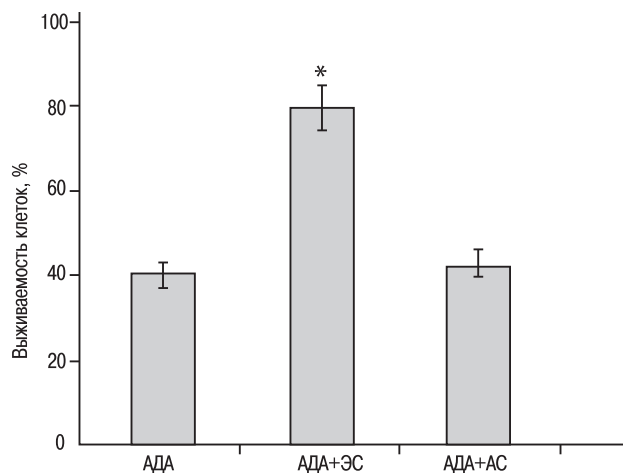


рис. 3: Влияние ингибиторов ГАЖК на защитный эффект N-арахидоноилдофамина в модели нейронального апоптоза. АДА – N-арахидоноилдофамин (5 мкМ), ЭС – N-эйкозапентаеноилсеротонин (10 мкМ), АС – N-арахидоноилсеротонин (10 мкМ).

Примечание: * – $p < 0,01$, t-тест Стьюдента при сравнении групп АДА и АДА+ЭС.

нию защитного эффекта, что, возможно, связано с меньшей активностью АС в отношении ГАЖК (рис. 3).

Далее была проведена оценка зависимости защитного действия АДА (5 мкМ) от концентрации ЭС. Заметное повышение жизнеспособности нейронов (на 28%) наблюдалось для комбинации АДА с 5 мкМ ЭС. Максимальное нейропротекторное действие для комплекса АДА+ЭС составило 78% и регистрировалось при концентрации ЭС 10 мкМ (рис. 4).

Таким образом, использование субмаксимальной концентрации АДА (5 мкМ) в сочетании с ЭС (10 мкМ) приводит к значительному усилению защитного эффекта. Значения выживаемости для данной комбинации превышают подобные значения для АДА в концентрации 10 мкМ. Важно отметить, что ЭС не оказывает собственного защитного действия и не токсичен в нормальных условиях в концентрации (10 мкМ), использованной в данной работе. Можно заключить, что данная комбинация нейрוליпинов позволяет снизить концентрацию нейропротектора и уменьшить возможные побочные эффекты без снижения его эффективности.

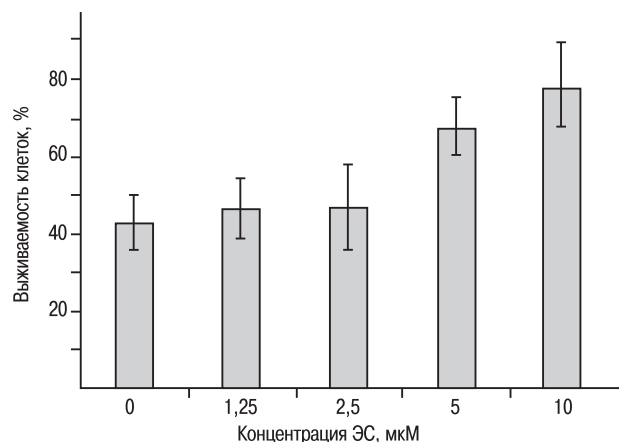


рис. 4: Зависимость защитного эффекта N-арахидоноилдофамина (АДА, 5 мкМ) от концентрации N-эйкозапентаеноилсеротонина (ЭС)

Ранее нами было показано, что N-ацилдофамины являются антиоксидантами и защищают нейроны в условиях окислительного стресса *in vitro* [2, 11]. В работе по изучению влияния N-ацилдофаминов на мозговую микроциркуляцию было установлено, что они способны усиливать локальный кровоток в тканях головного мозга крыс, а также оказывают антиагрегационное действие [3]. Кроме того, N-ацилсеротонины, помимо их ингибиторных свойств в отношении ГАЖК, способны эффективно блокировать агрегацию тромбоцитов человека, стимулированную арахидоновой кислотой, АДФ и адреналином [4]. Приведенные данные публикаций указывают на то, что нейрוליпины могут выступать как нейропротекторы на разных этапах развития ишемических повреждений головного мозга.

Таким образом, совместное применение модуляторов каннабиноидной системы — агонистов рецепторов и ингибиторов ферментов метаболизма этих агонистов — представляется эффективным для защиты нервных клеток. Результаты работы могут послужить экспериментальным обоснованием возможности практического применения исследованных соединений в целях фармакологической коррекции повреждений нейронов головного мозга в патологических условиях, таких как ишемический инсульт.

Список литературы

1. Безуглов В.В., Грецкая Н.М., Блаженова А.В. и др. Арахидоноламинокислоты и арахидоноилпептиды: синтез и свойства. *Биоорг. химия* 2006; 32: 258–267.
2. Бобров М.Ю., Лыжин А.А., Андрианова Е.Л. и др. Антиоксидантные и нейропротекторные свойства N-докозагексаеноилдофамина. *Бюл. экск. биол. мед.* 2006; 142: 406–408.
3. Васильева Т.М., Петрухина Г.Н., Макаров В.А. и др. Влияние дофаминамидов полиненасыщенных жирных кислот на свертывающую систему крови и мозговое кровообращение. *Эксп. клин. фармакол.* 2002; 65: 41–45.

4. Васильева Т.М., Петрухина Г.Н., Макаров В.А. и др. Действие ряда синтетических амидов арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот на тромбоцитарную агрегацию. *Пробл. гематологии и переливания крови* 2005; 2: 15–21.
5. Хаспекоев Л. Г., Бобров М. Ю. Эндогенная каннабиноидная система и ее защитная роль при ишемическом и цитотоксическом повреждении нейронов головного мозга. *Нейрохимия* 2006; 23: 85–105.
6. Andreeva N., Khodorov B., Stelmashook E. et al. Inhibition of Na^+/Ca^{2+} exchange enhances delayed neuronal death elicited by glu-

tamate in cerebellar granule cell cultures. *Brain Res.* 1991; 548: 322–325.

7. *Bezuglov V., Bobrov M., Gretskeya N. et al.* Synthesis and biological evaluation of novel amides of polyunsaturated fatty acids with dopamine. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* 2001; 11: 447–449.

8. *Bisogno T., Melck D., Bobrov M.Yu. et al.* N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem. J.* 2000; 351: 817–824.

9. *Bisogno T., Melck D., De Petrocellis L.* Arachidonoylserotonin and other novel inhibitors of fatty acid amide hydrolase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 248: 515–522.

10. *Bobrov M., Gretskeya N., Payet O. et al.* Different pharmacological profile of two closely related endocannabinoid ester analogs. *Life Sci.* 2005; 77: 1425–1440.

11. *Bobrov M.Y., Lizhin A.A., Andrianova E.L. et al.* Antioxidant and neuroprotective properties of N-arachidonoyldopamine. *Neurosci. Lett.* 2008; 431: 6–11.

12. *Chu C.J., Huang S.M., De Petrocellis L. et al.* N-oleoyldopamine, a novel endogenous capsaicin-like lipid that produces hyperalgesia. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 13633–13639.

13. *De Petrocellis L., Chu C.J., Moriello A.S. et al.* Actions of two naturally occurring saturated N-acyldopamines on transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels. *Br. J. Pharmacol.* 2004; 143: 251–256.

14. *D'Mello S.R., Galli C., Ciotti T.* Induction of apoptosis in cerebellar granule neurons by low potassium: inhibition of death by insulin-like growth factor I and cAMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90: 10989–10993.

15. *Fowler C.J., Tiger G., Lyppez-Rodriguez M.L. et al.* Inhibition of fatty acid amidohydrolase, the enzyme responsible for the metabolism of the endocannabinoid anandamide, by analogues of arachidonoyl-serotonin. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2003; 18: 225–231.

16. *Hillard C.J., Wilkison D.M., Edgemond W.S. et al.* Characterization of the kinetics and distribution of N-arachidonylethanolamine (anandamide) hydrolysis by rat brain. *Biochim. Biophys. Acta.* 1995; 1257: 249–256.

17. *Huang S.M., Bisogno T., Trevisani M. et al.* An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 8400–8405.

18. *Mackie K.* Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2005; 168: 299–326.

19. *Pandey R., Mousawy K., Nagarkatti M. et al.* Endocannabinoids and immune regulation. *Pharmacol. Res.* 2009; 60: 85–92.

20. *Panikashvili D., Simeonidou C., Ben-Shabat S. et al.* An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature* 2001; 413: 527–531.

21. *Schomacher M., Moller H.D., Sommer C. et al.* Endocannabinoids mediate neuroprotection after transient focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 2008; 1240: 213–220.

22. *Sinor A.D., Irvin S.M., Greenberg D.A.* Endocannabinoids protect cerebral cortical neurons from in vitro ischemia in rats. *Neurosci. Lett.* 2000; 278: 157–160.

23. *Yates M.L., Barker E.L.* Inactivation and biotransformation of the endogenous cannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Mol. Pharmacol.* 2009; 76: 11–17.

Modulators of endogenous cannabinoid system as neuroprotectors

E.E. Genrikhs, M.Yu. Bobrov, E.L. Andrianova, N.M. Gretskeya, A.A. Lyzhin, A.V. Blazhenova, L.E. Frumkina,
V.V. Bezuglov, L.G. Khaspekov

*Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences;
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry;
Russian Academy of Sciences (Moscow)*

Key words: neuroprotection, endocannabinoids, N-arachidonoyldopamine, anandamide, fatty acid amide hydrolase, apoptosis, cerebellar granule neurons

The neuroprotective action of endocannabinoid N-arachidonoyldopamine (AA-DA) in the model of apoptosis induced in cultured rat cerebellar granule neurons by K⁺ deprivation was investigated. The efficacy of simultaneous application of AA-DA with fatty acid amide hydrolase inhibitor N-eicosapentaenoyldopamine (EPA-5HT) was also evaluated. It was shown that AA-DA dose-dependently protects neurons, with maximal effect of 65% survived cells observed at concentration 10 μM. The use of submaximal concentration (5 μM) of AA-DA in combination with EPA-5HT (10 μM) led to significant

enhancement of neuroprotection. The value of cell survival for the combination exceeded such values for AA-DA alone in concentration of 5 and 10 μM, increasing the neuronal survival up to 78%. It may be concluded that such combination allows to reduce efficient concentration of neuroprotector and to diminish its possible side effects. Thus, the simultaneous application of endocannabinoid system modulators such as cannabinoid receptor agonists and inhibitors of endocannabinoid hydrolysis appears to be effective approach for neural cells protection.

Контактный адрес: Бобров Михаил Юрьевич — канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаборатории оксипинов НИИ биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10. Тел.: +7 (495) 330-65-92, факс: +7 (495) 335-71-03; e-mail: mbobr@mail.ru.

Е.Е. Генрихс — мл. науч. сотр. лаборатории экспериментальной нейробиологии отдела исследований мозга НЦН РАМН;

Е.Л. Андрианова — канд. хим. наук, науч. сотр. лаборатории экспериментальной нейробиологии отдела исследований мозга НЦН РАМН;

Н.М. Грецкая — канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаборатории оксипинов НИИ биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

А.А. Лыжин — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экспериментальной нейробиологии отдела исследований мозга НЦН РАМН;

А.В. Блаженова — асп. лаборатории оксипинов НИИ биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

Л.Е. Фрумкина — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ультраструктуры и цитохимии мозга отдела исследований мозга НЦН РАМН;

В.В. Безуглов — докт. хим. наук, зав. лабораторией оксипинов НИИ биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

Л.Г. Хаспеков — докт. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальной нейробиологии отдела исследований мозга НЦН РАМН (Москва)