

«Здоровый и больной мозг: от молекулярной физиологии к патологии, клинике и лечению»

Наиль Бурнашев



IV Патологические процессы в мозге и их коррекция

- 1. Основные патологические процессы в мозге.**
- 2. Генетические заболевания.**
- 3. Клеточные и молекулярные механизмы развития эпилепсии**
- 4. Синаптическая дисфункция при распространенных заболеваниях ЦНС. Болезнь Альцгеймера**
- 5. Принципы разработки современных методов лечения заболеваний ЦНС**

V Влияние наркотических веществ на работу мозга

1. Эндоканнабиноидная система мозга

2. Механизмы влияния наркотических веществ на функции мозга

Многочисленные грани каннабиноидов как нейронных модуляторов

(Эндо)каннабиноиды

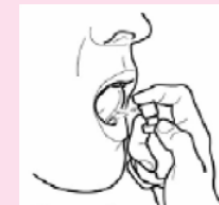
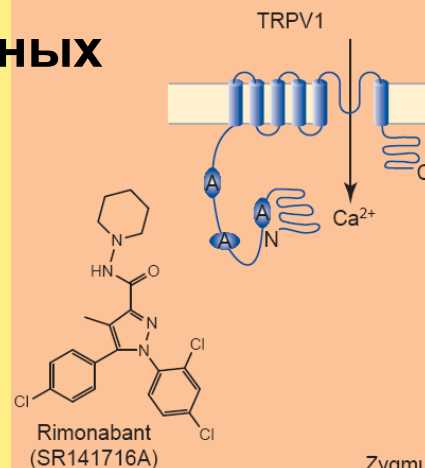
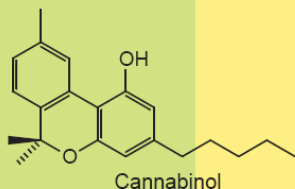
Повсеместно в головном мозге

Участвуют в обработке информации и синаптической пластичности в здоровом мозге.

Влияют на обучение и память, модулируют двигательную активность и пути, ответственные за удовольствие.

Система каннабиноидов является перспективной фармакологической мишенью (лечение эпилепсии, спастичности, невропатической боли; психических расстройств и других расстройств, связанных с перевозбуждением нервных цепей)





Sativex® approved for sale in Canada; regulatory approval is filed to sell rimonabant in the USA; the Aberdeen group discovers an allosteric site on CB₁ receptors

- Cloning of new cannabinoid receptors; identification of other endocannabinoid enzymes; cloning of the endocannabinoid transporter; more endocannabinoid-based therapies

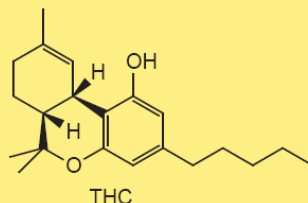
200
The therapeutic
properties of
cannabis are
described in
Chinese
pharmacopoeia

1838–1840
Sir W.B.
O'Shaughnessy
assesses
methodically
the medicinal
properties
of cannabis



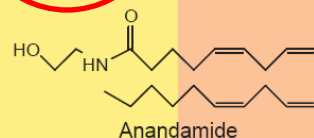
1932
Cahn elucidates
part of the
structure of
cannabinol

1964
Gaoni and
Mechoulam
elucidate
the structure
of THC



1988
Howlett's group
identifies specific
THC binding
sites in the
brain

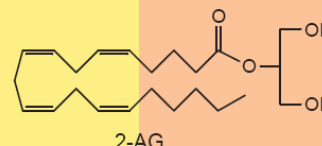
1992
Mechoulam's group in collaboration with Pertwee's group identify the first endocannabinoid, anandamide



1995
Mechoulam's group
and Waku's group
identify the second
endocannabinoid,
2-AG

1998
House of Lord's
report on medical
cannabis;
Di Marzo *et al.*
propose the
existence of
interactions
between
endocannabinoids
and vanilloid
receptors

2003
Bisogno *et al.*
clone the first
endocannabinoid
biosynthesizing
enzymes



Cannabinoid research

Endocannabinoid research



Каннабиноиды

традиционно используется в течение тысяч лет, в том числе и в медицине

Активное соединение - (Δ^9 -THC) идентифицировано в 1964 году

Каннабиноидные рецепторы головного мозга (CB1R) идентифицированы в 1990 году.

CB1R является одним из наиболее распространенных рецепторов G-белков в головном мозге

Другой рецептор (CB2R) не найден в нейронах мозга, но распространен иммунных тканях

Большинство (но не все) эффекты Δ^9 -THC отсутствуют в CB1-/- мышах

"CBX" рецептор - может существовать

Каннабиноиды: агонисты и антагонисты СВ рецепторов

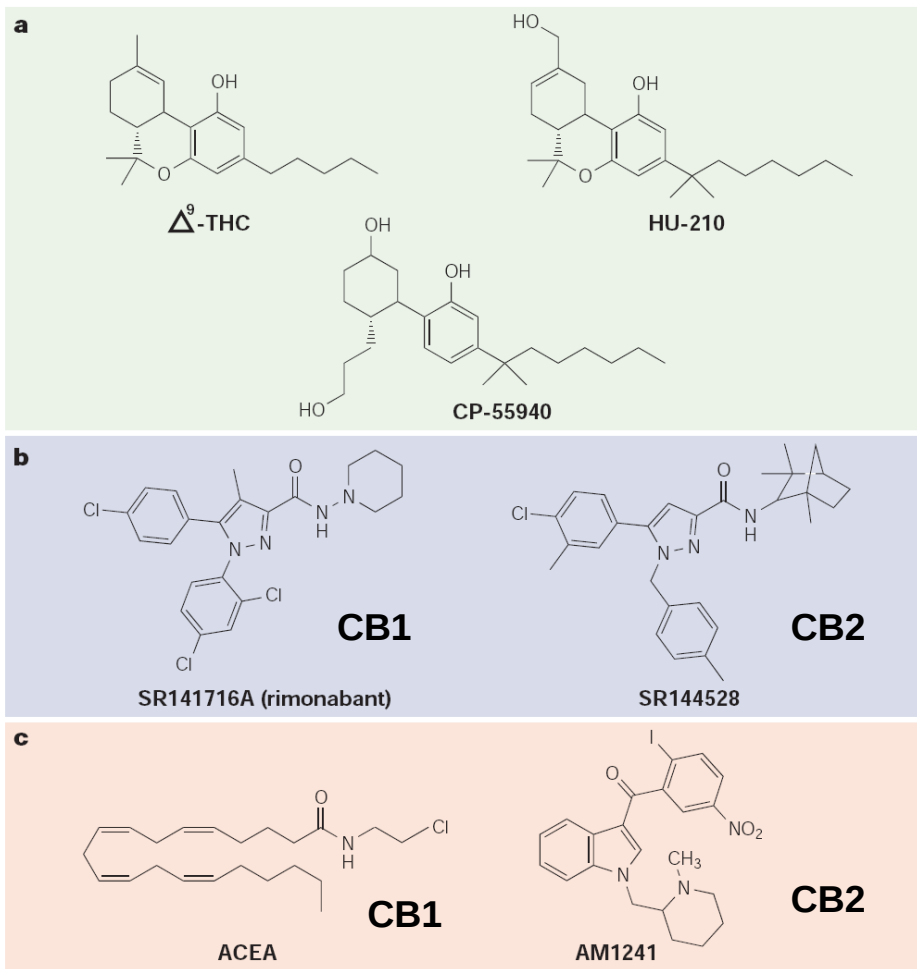


Figure 1 | Chemical structures of plant-derived and synthetic compounds that bind to cannabinoid receptors. **a** | Cannabinoid receptor agonists, which activate both CB₁ and CB₂ receptors. THC, tetrahydrocannabinol. **b** | Selective CB₁ antagonist (SR141716A, rimonabant) and CB₂ antagonist (SR144528). **c** | Selective CB₁ agonist (arachidonoyl-2'-chloroethanolamide, ACEA)¹⁴⁵ and CB₂ agonist (AM1241)¹⁴⁶.

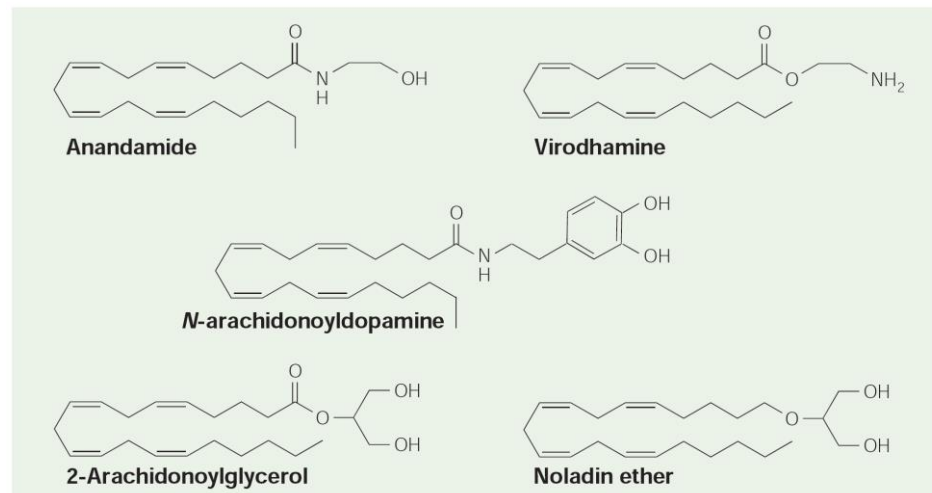
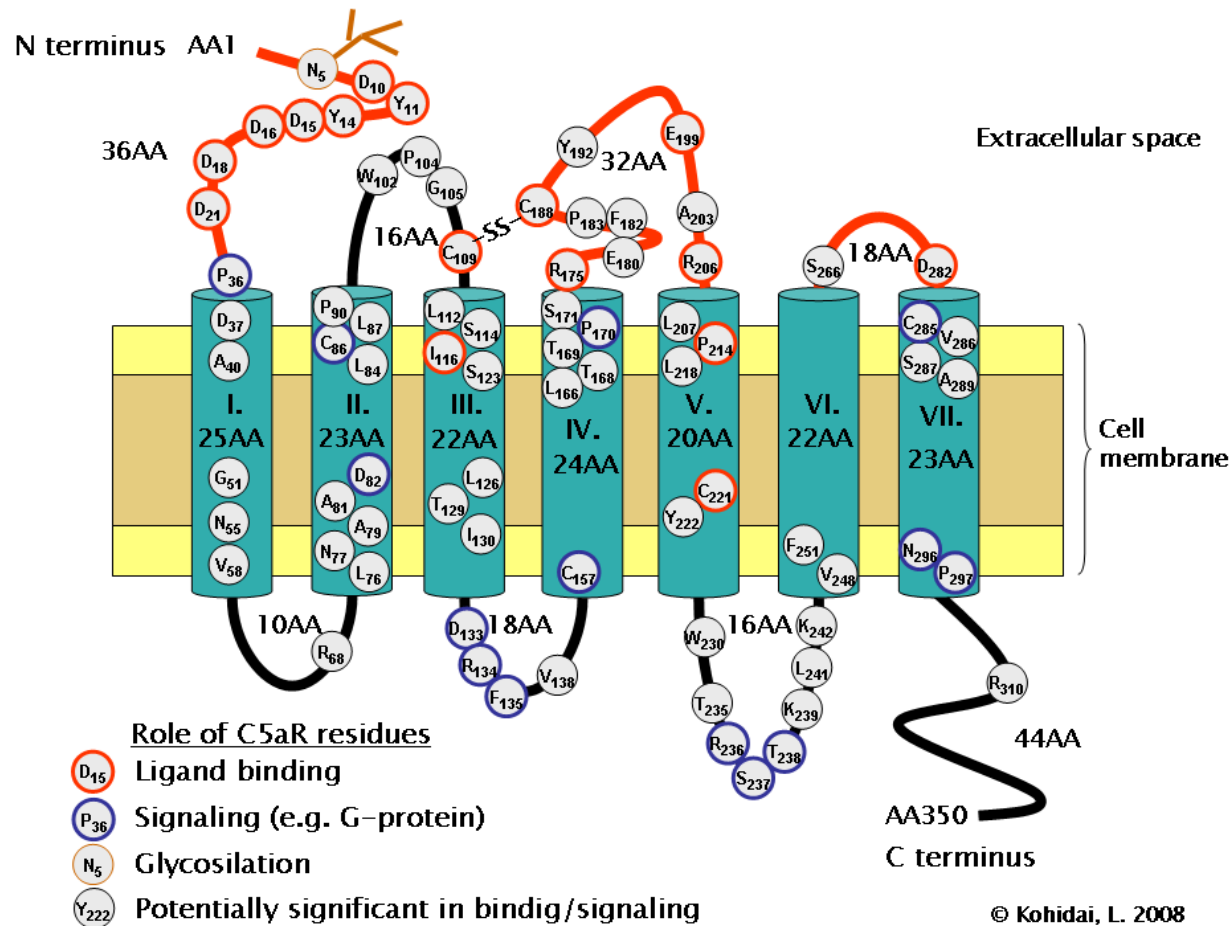
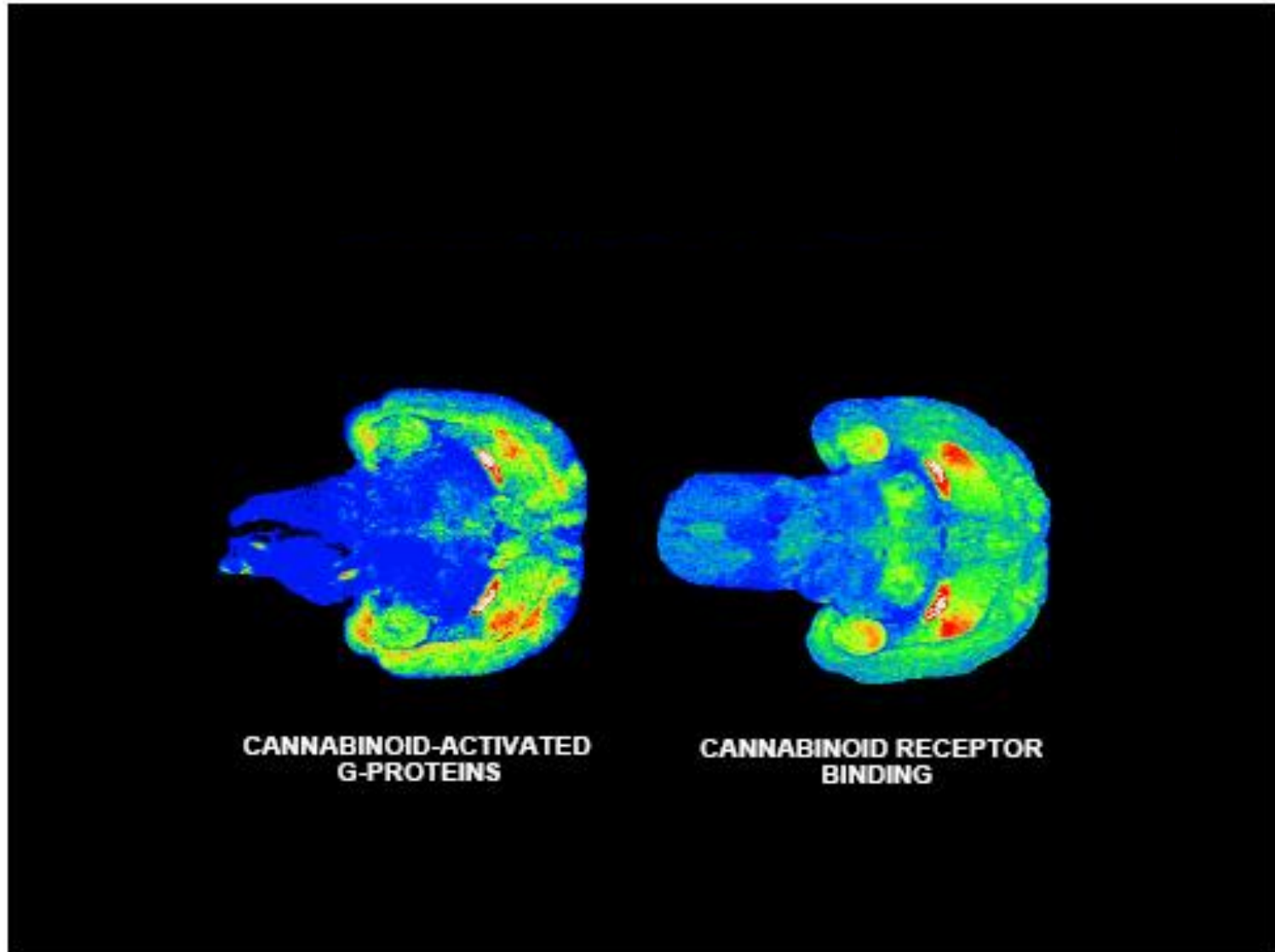


Figure 2 | Chemical structures of endogenous compounds that bind to cannabinoid receptors.

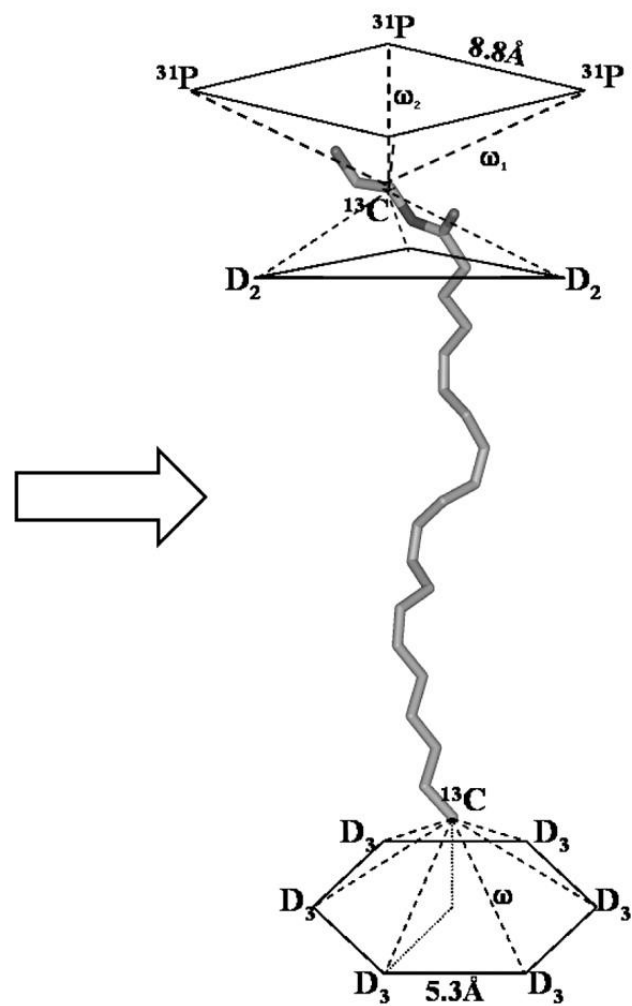
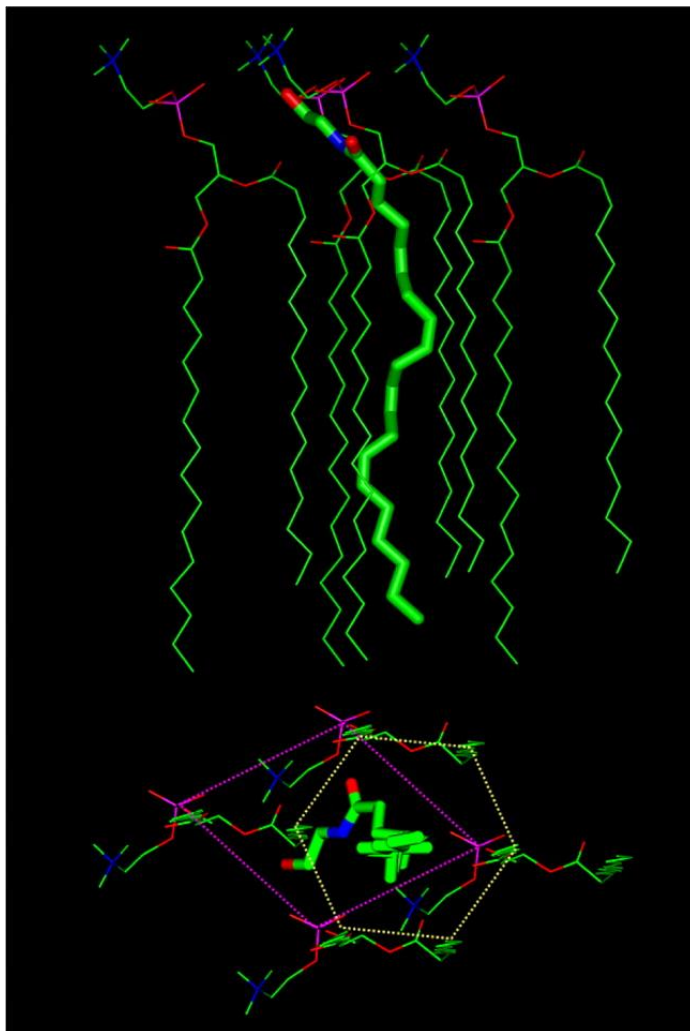
Каннабиноидный рецептор



Распределение каннабиноидных рецепторов и активированных каннабиноидами G-белков в мозге крыс

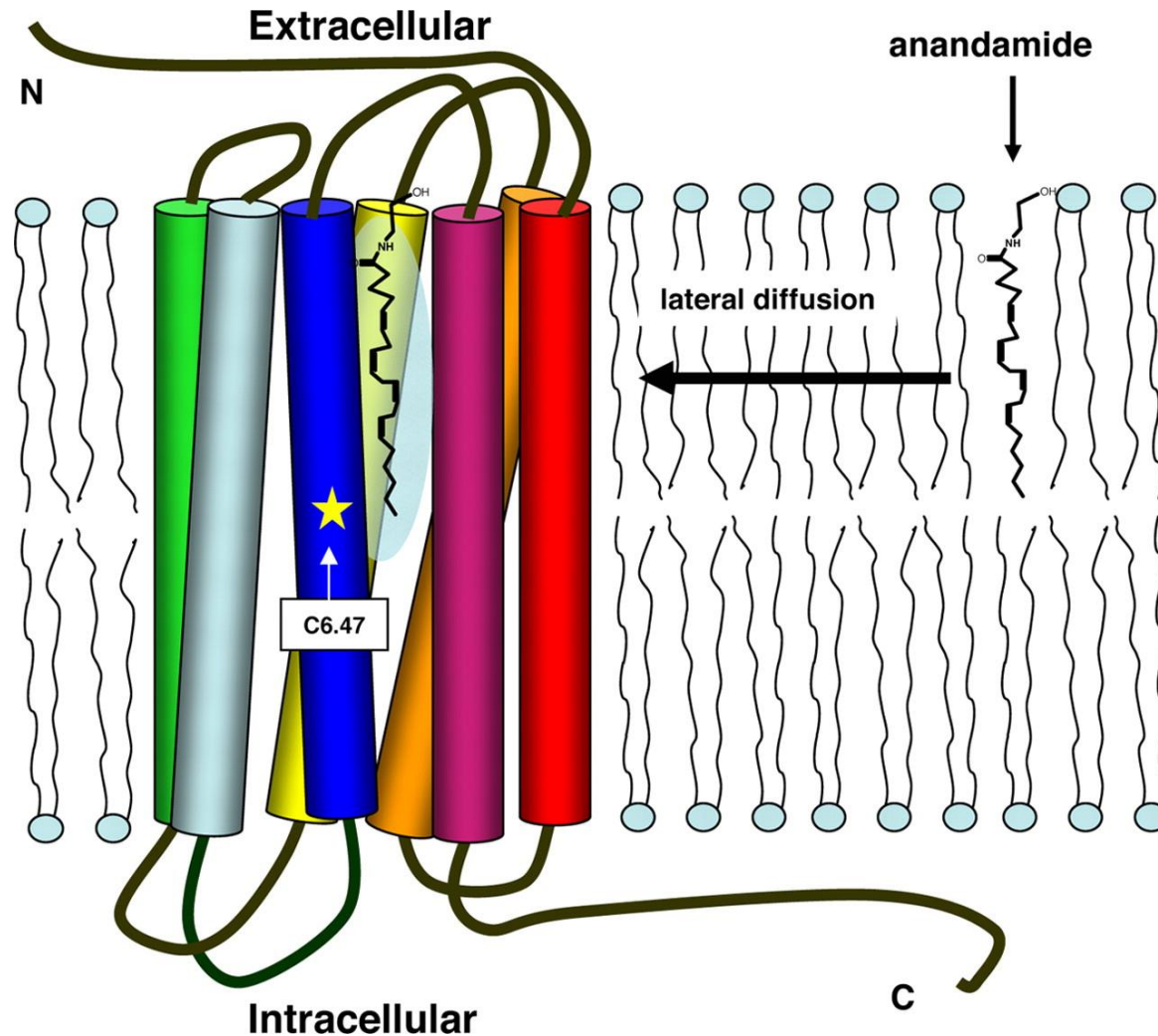


Трехмерная модель решетки анандамида

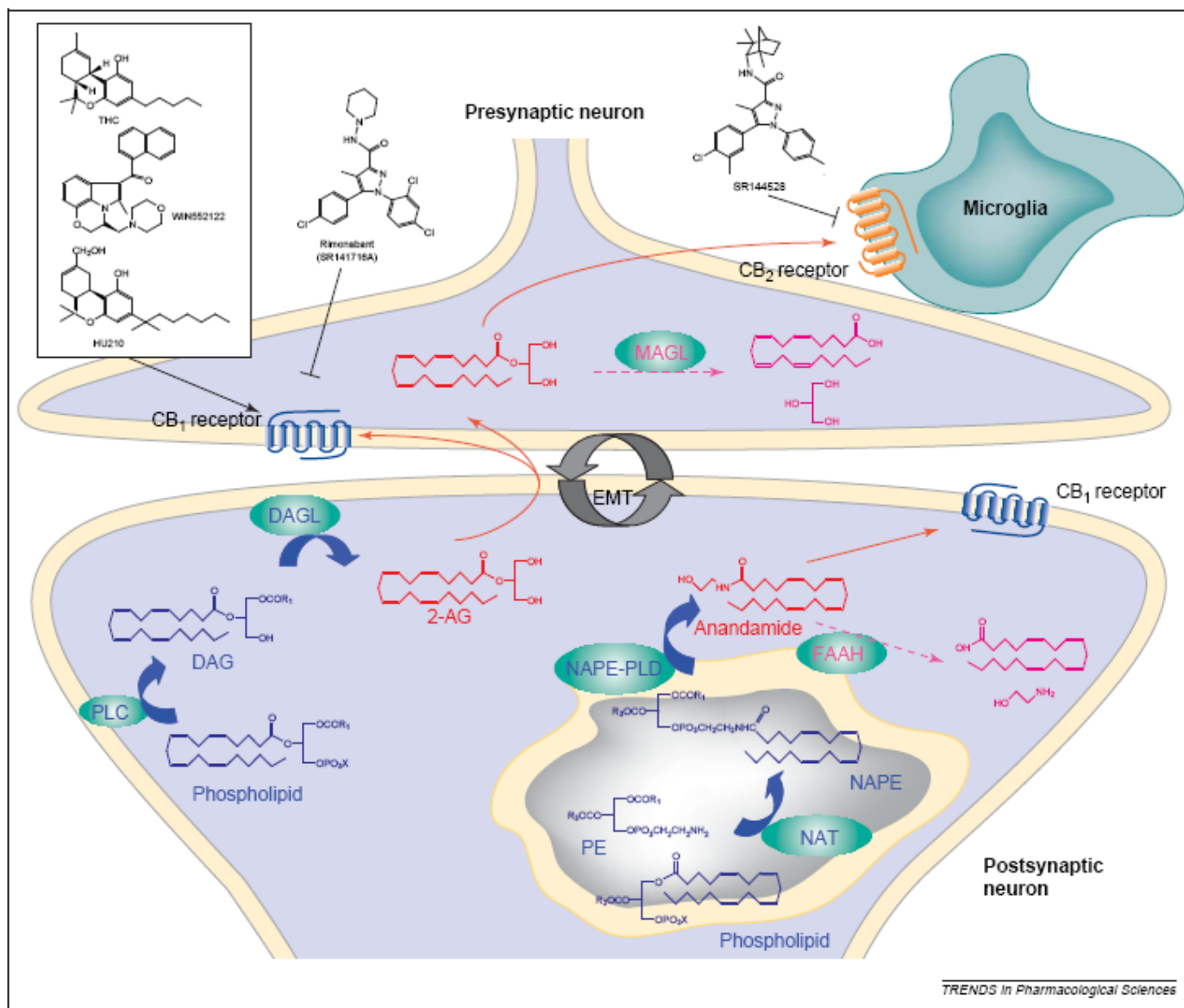


Tian, X. et al. J. Biol. Chem. 2005;280:29788-29795

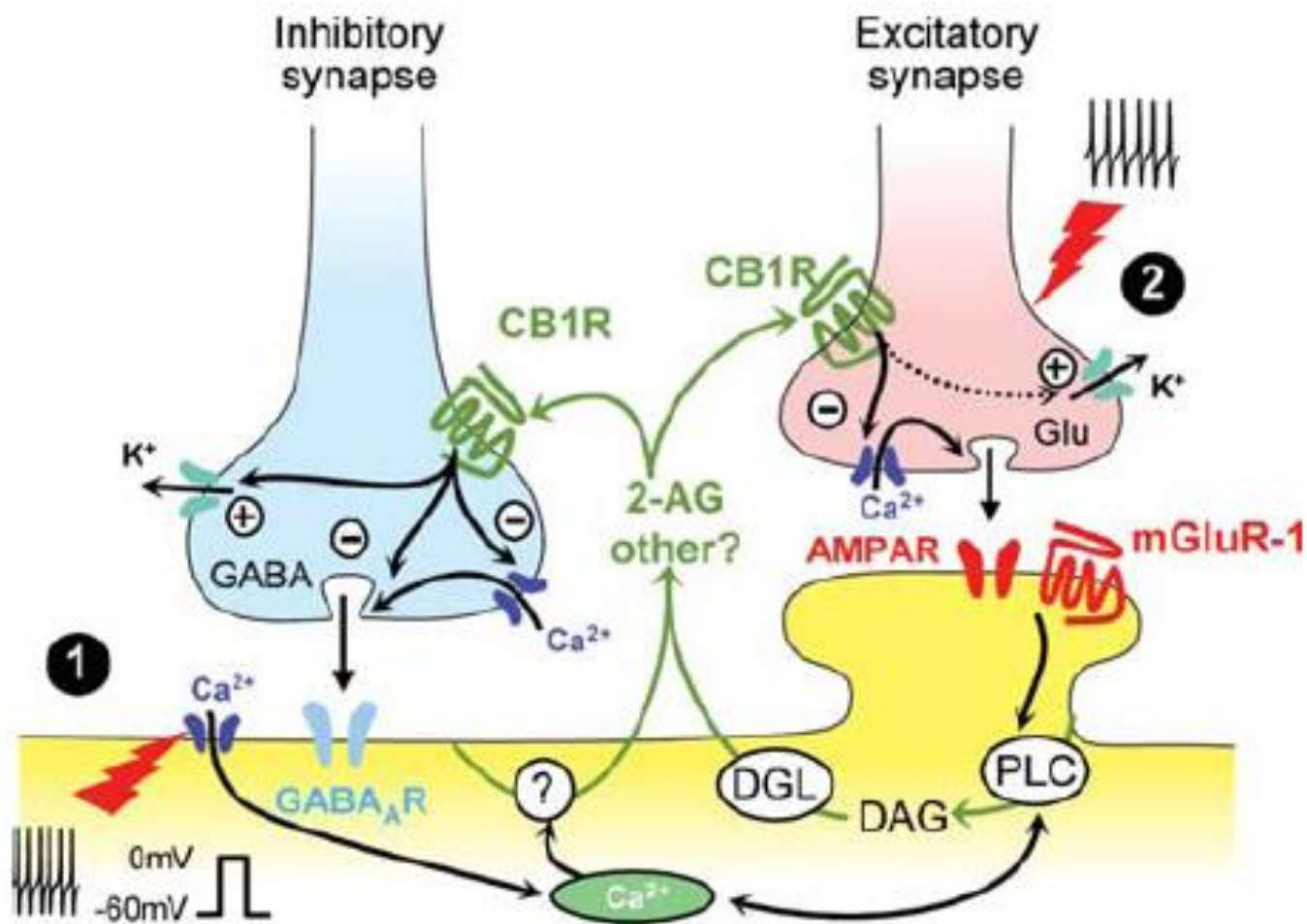
Эндоканнабиноид анандамид предполагает расширенную конформацию в бислое с полярной группой на том же уровне, что и полярные группы головок фосфолипидов



Эндоканнабиноидная система в мозге



Кратковременная и долговременная синаптическая пластичность, вызванная эндоканнабиноидами

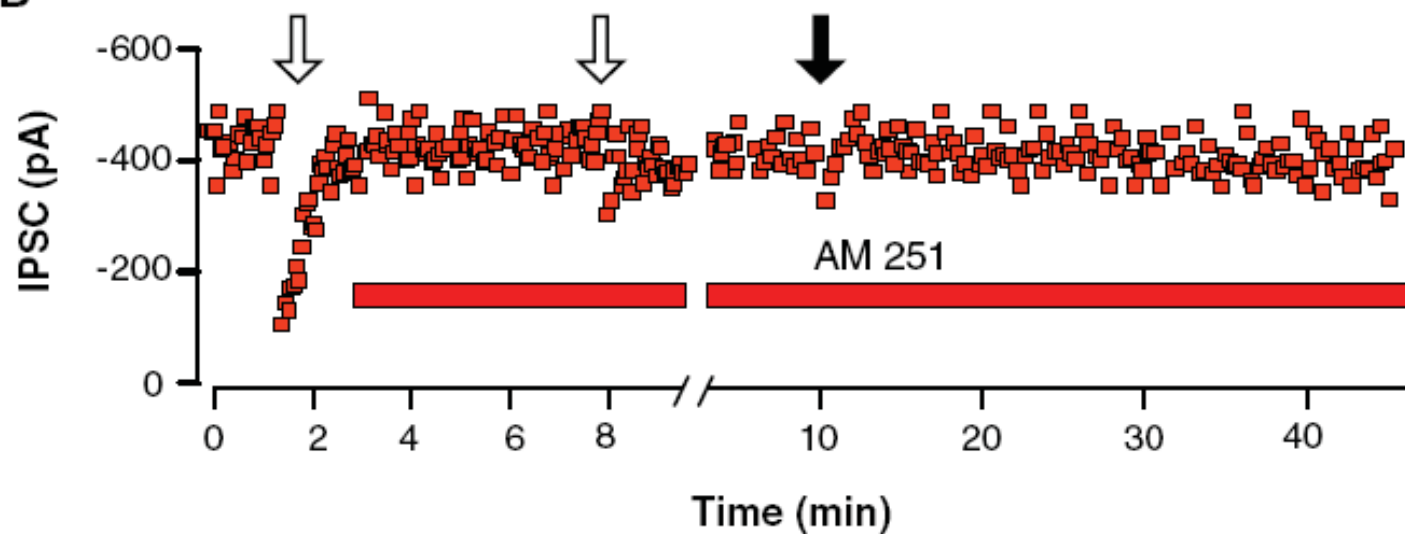


Кратковременная и долговременная синаптическая пластичность, вызванная эндоканнабиноидами

A



B



Однако:

1. Анандамид (AEA) индуцирует каталепсии, обезболивание и снижение спонтанной активности у мышей с дефицитом CB1 рецепторов.
2. Типичные эффекты AEA на спонтанную активность, температуру тела и восприятие боли не чувствительны к антагонисту CB1 рецепторов SR 141716A

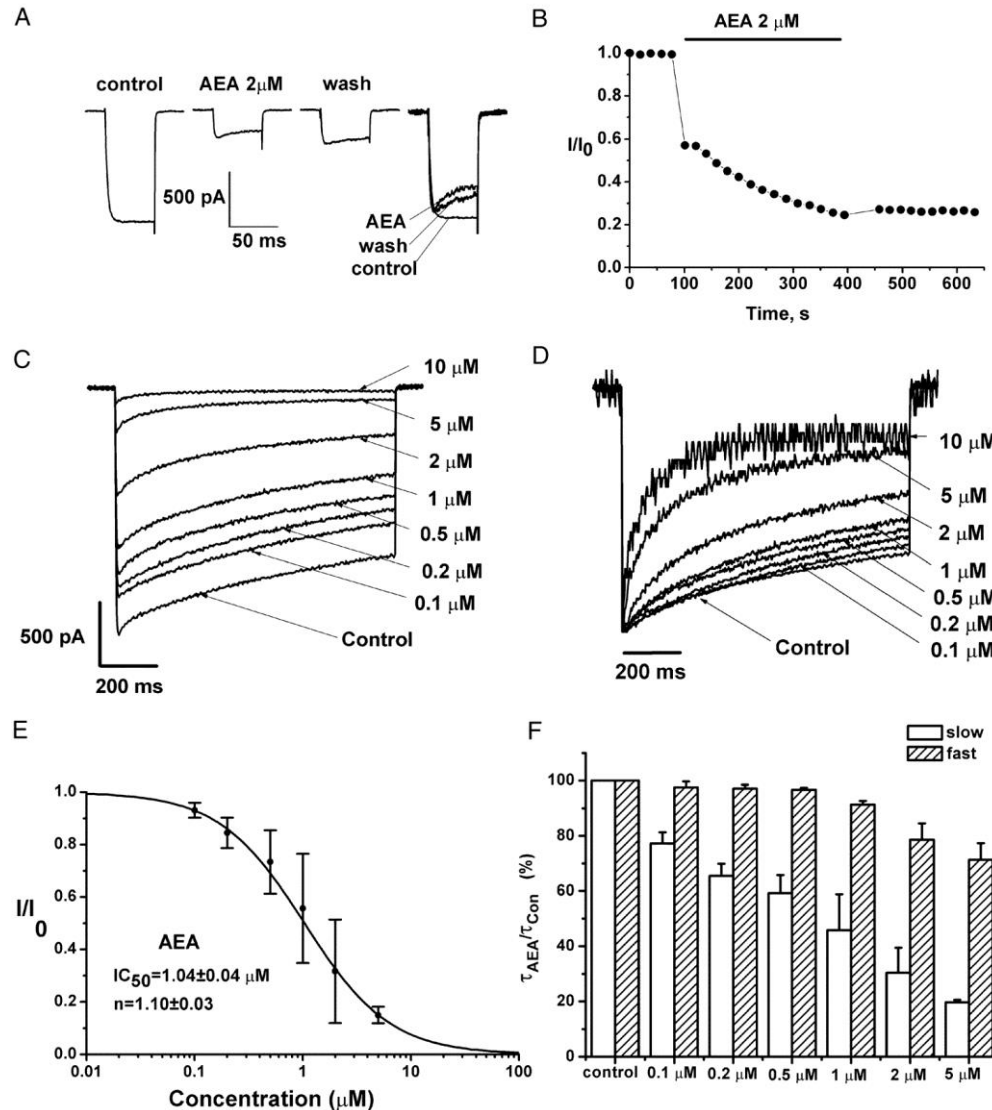
Мишени для действия каннабиноидов, отличные от CB1 рецепторов

Receptors	IC ₅₀	Reference
AchR - α -7	118 nM 2-AG 163 nM Anandamide 1.03 μ M CP 55,940 3.2 μ M WIN 5521,2	Oz et al., 2004
5-HT ₃ -R	3.7 μ M Anandamide	Oz et al., 2002
h5-HT ₃ -R	>1 μ M SR141617A 129.6 nM Anandamide 646,7 nM CP 55,940 103.5 nM WIN 5521,2	Baram et al., 2002
AMPA GluR-1 GluR-3 GluR-1/3 GluR-2/3	161 μ M 143 μ M Anandamide 148 μ M 241 μ M	Akinshola et al., 1999
NMDAR	Potentiation	
NR1-NR2A	20% 1 μ M Anandamide max 50% with 10 μ M	Hampson et al., 1998

Прямая модуляция K⁺ токов эндоканнабиноидами

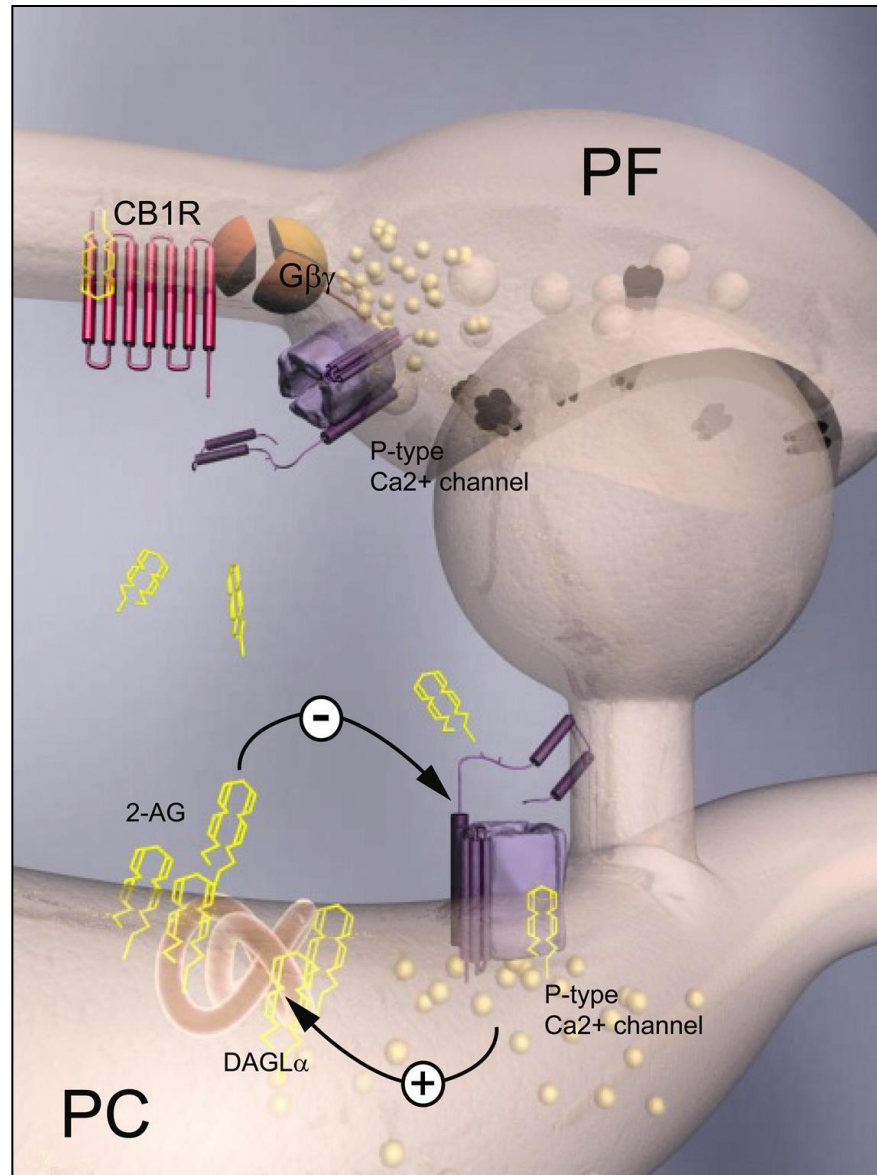
Leak K ⁺ channels TASK	Ion current	Inhibition	IC ₅₀ = 0.7 μM AEA	COS, CHO, HEK cells, cerebellar neurons	Maingret et al., 2001
<i>Shaker</i> Kv1.2 K ⁺	Ion current	Inhibition	IC ₅₀ = 2.7 μM AEA; 2.4 μM THC	B82 cells, hippocampal neurons	Poling et al., 1996
Delayed rectifier K ⁺	Ion current	Inhibition	IC ₅₀ = 0.6 μM AEA	Myocytes	Van den Bossche & Vanheel, 2000
Delayed rectifier K ⁺ Kv3.1	Ion current	Inhibition	IC ₅₀ = 80 nM AEA	<i>Xenopus</i> oocytes, neurons	Oliver et al., 2004

Прямая модуляция Ca^{2+} каналов Р-типа в нейронах Пуркинье мозжечка анандамидом

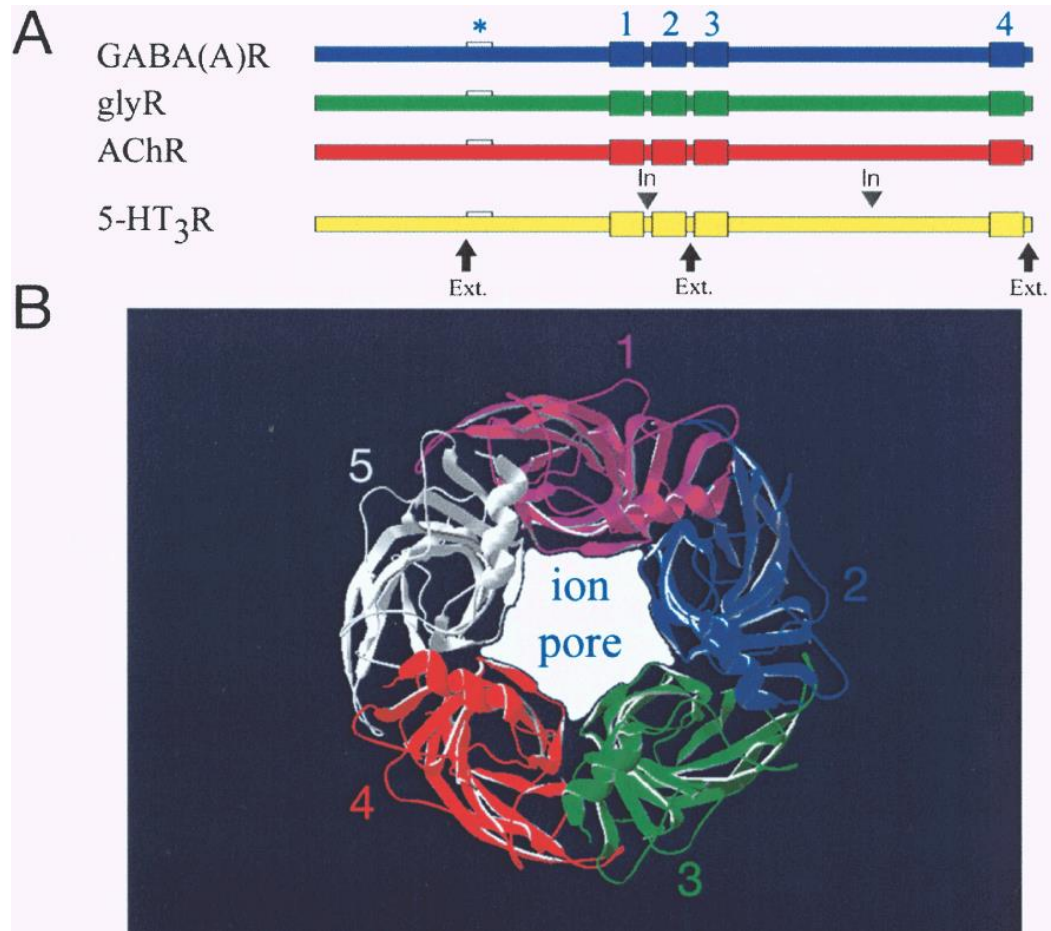


Fisyunov, A. et al. J Neurophysiol 96: 1267-1277 2006;

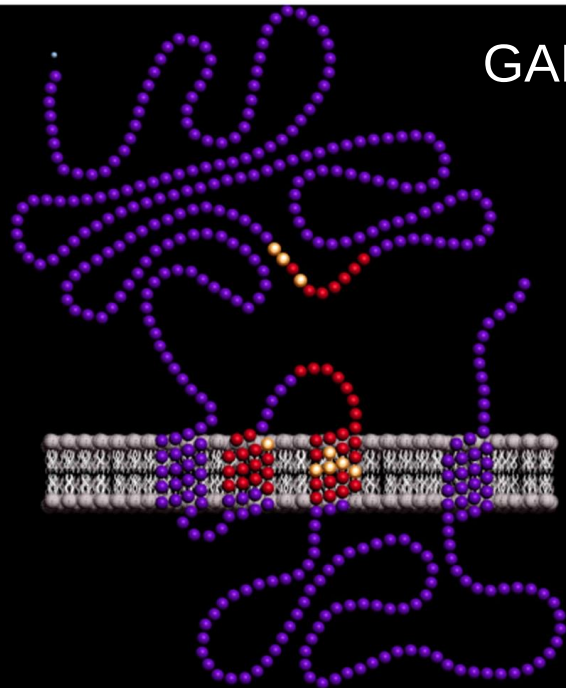
Прямая модуляция Ca^{2+} каналов Р-типа в нейронах Пуркинье мозжечка анандамидом



Рецепторы семейства белков Cys-петли



GABA_AR

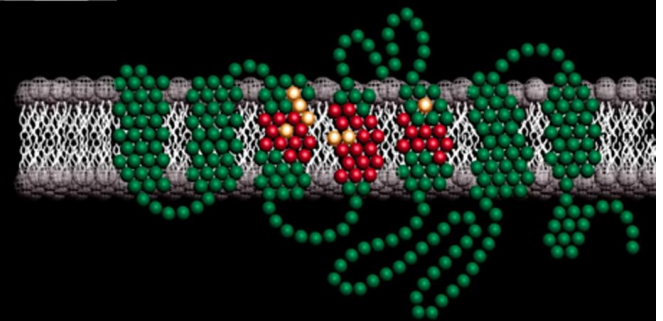


P	K	V	A	Y	A	T	A	M	D	W	F	I	A	V	C	Y	A
P	K	A	V	V	A	F	C	L	M	W	T	I	A	I	V	I	A

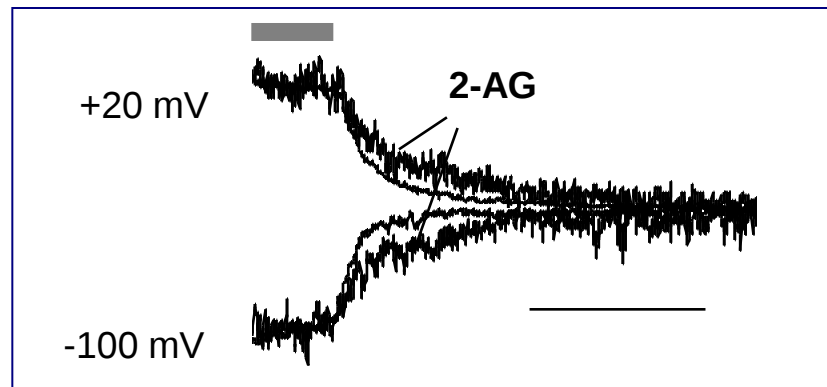
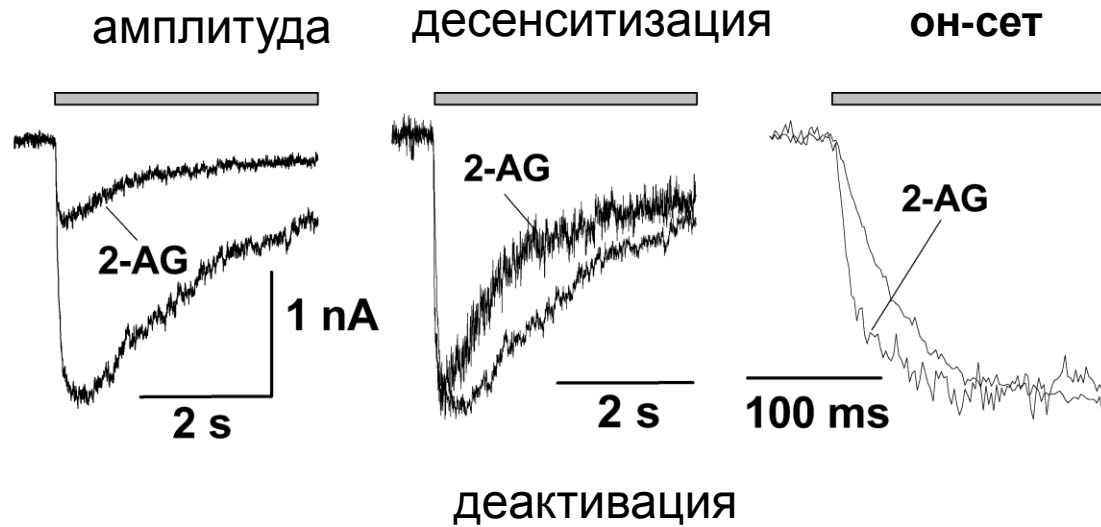
F	G	V	T	T	V	L	T	M
I	G	V	T	S	V	L	L	L

G	V	T	T	V	L	T	M	T	T	L	S	I
G	V	T	A	S	F	T	A	S	V	G	S	L

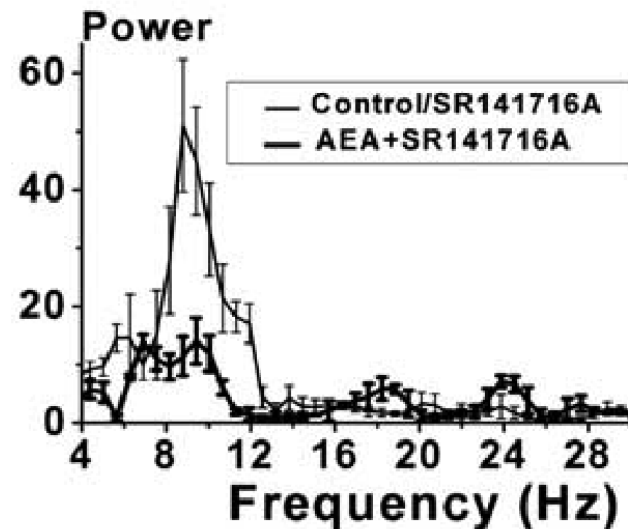
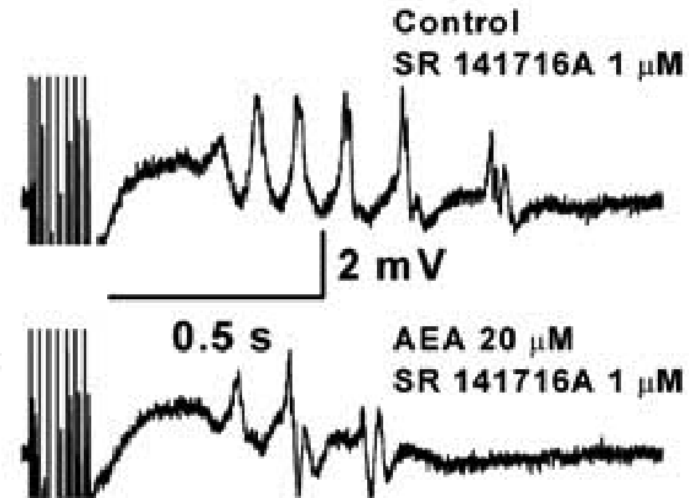
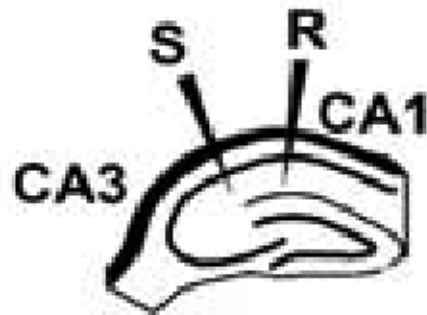
CB₁R



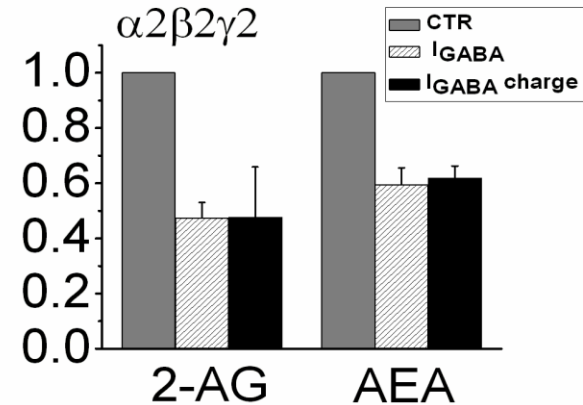
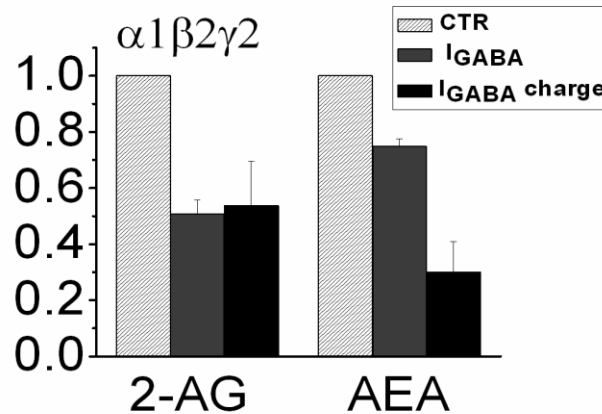
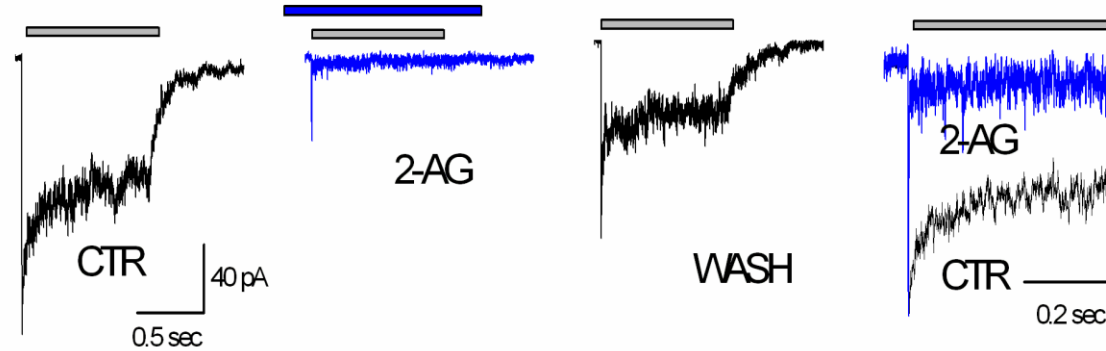
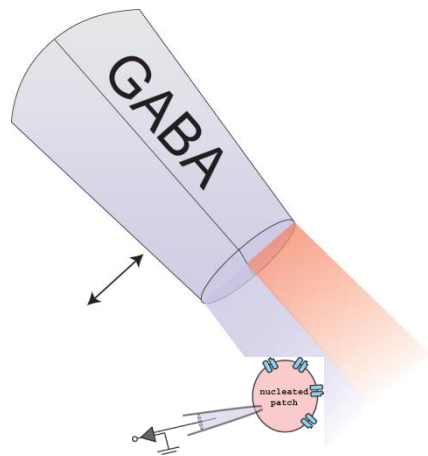
Модуляция токов через глициновые рецепторы ферментативно изолированных пирамидальных CA3 нейронов гиппокампа эндогенными каннабиноидами (2-AG)



Ингибирование каннабиноидами GlyR-опосредованной эпилептиформной активности



Влияние каннабиноидов на GABA_AR , экспрессированные в клетках HEK293 (outside-out)

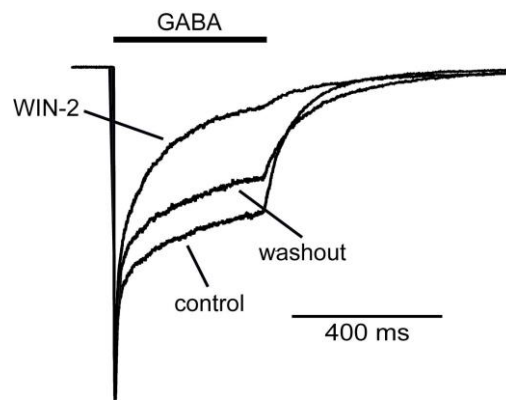


Влияние каннабиноидов на $GABA_A$ R, экспрессированные в клетках HEK293 (whole-cell)

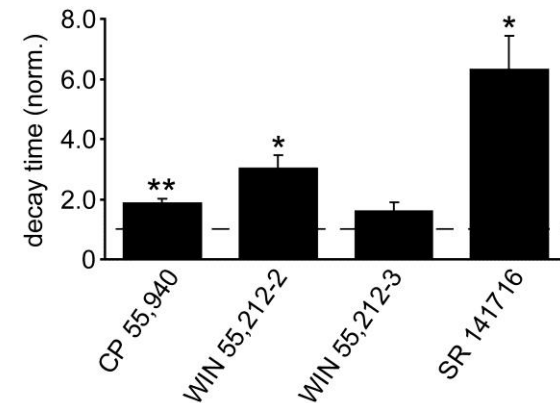
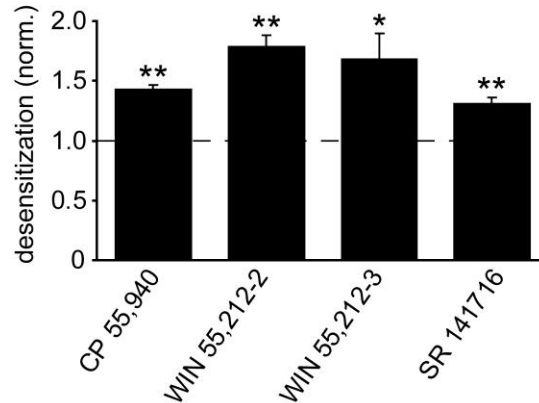
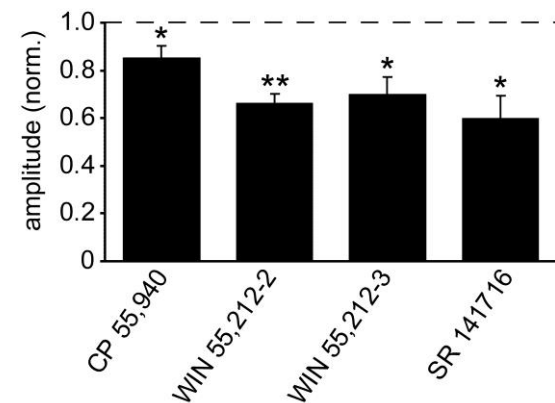
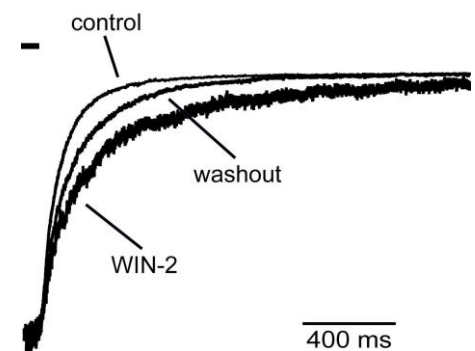
амплитуда



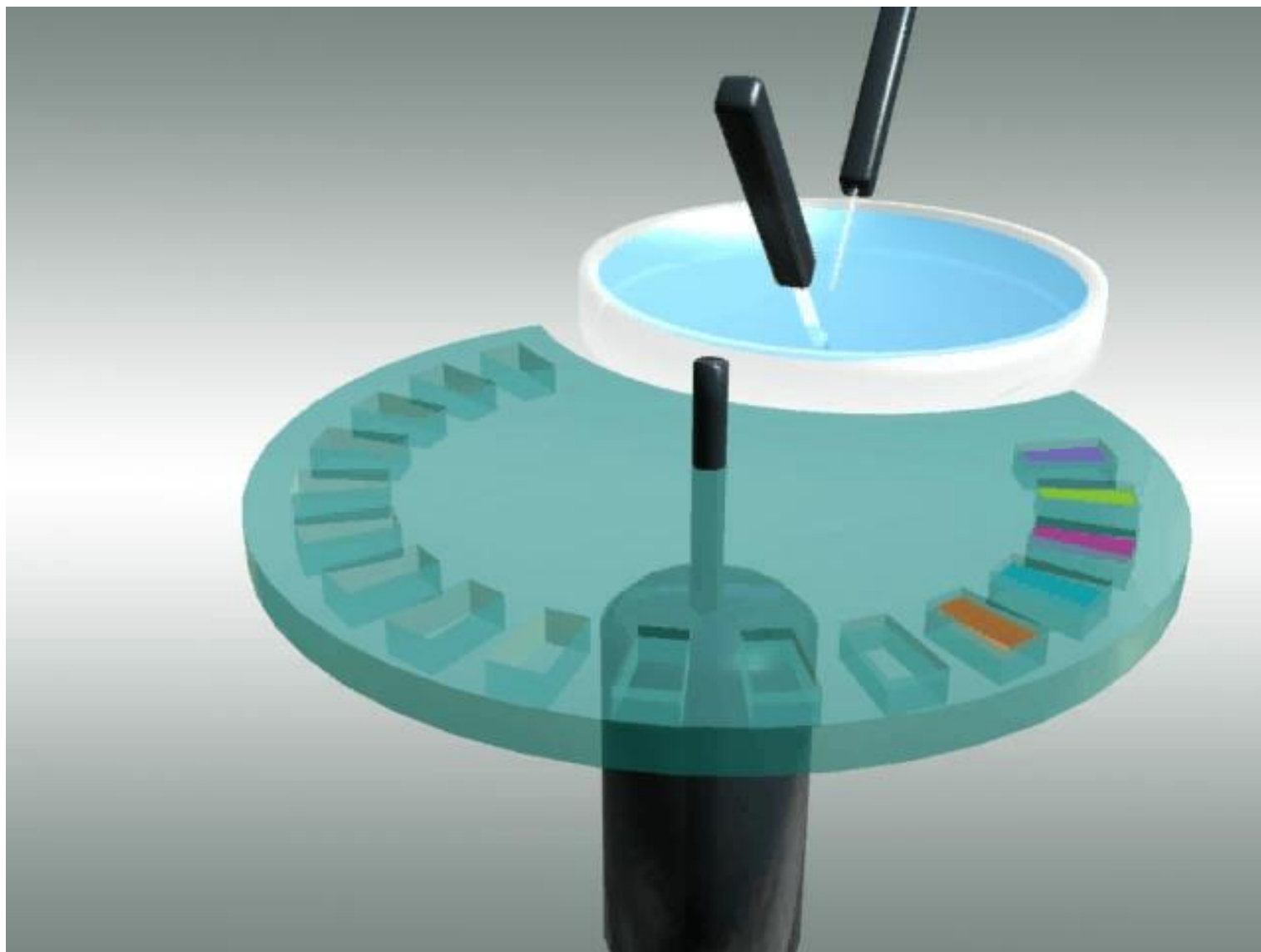
десенситизация



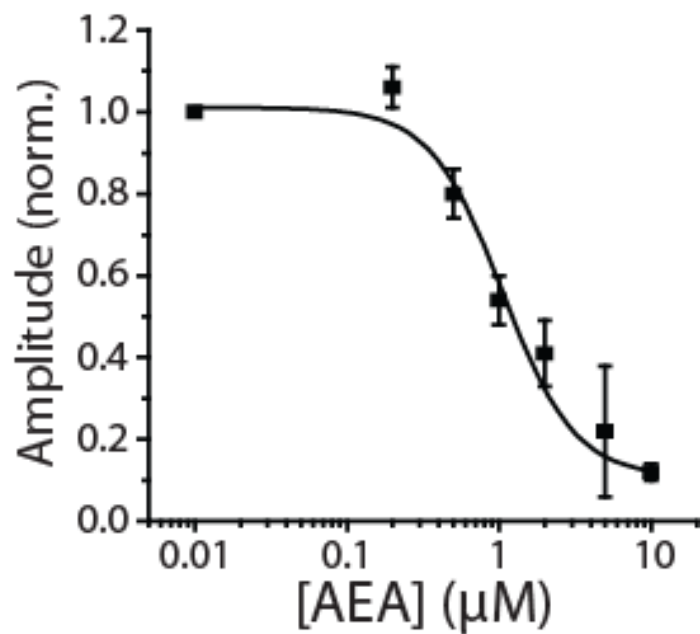
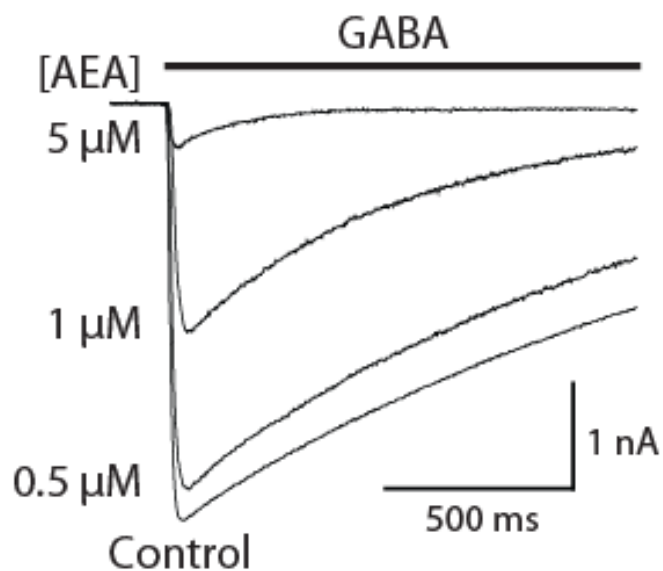
деактивация



Дозозависимый эффект каннабиноидов (метод)



Дозозависимый эффект анандамида на амплитуду ГАМК токов

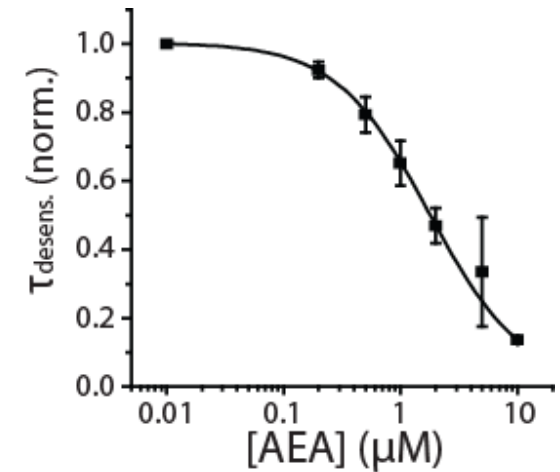
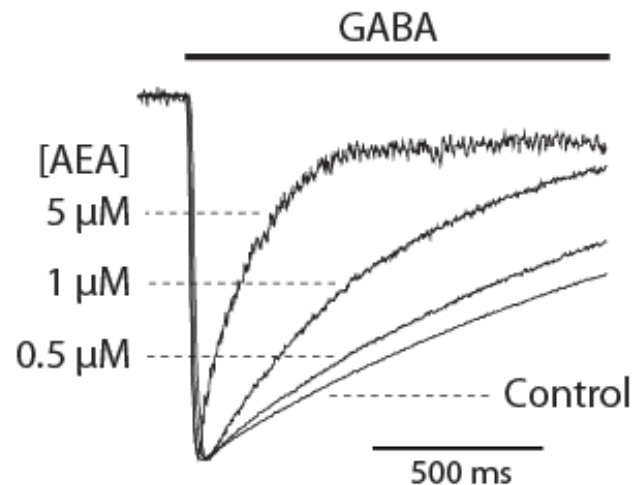


$\text{IC}_{50} = 880 \pm 210 \text{ nM}$

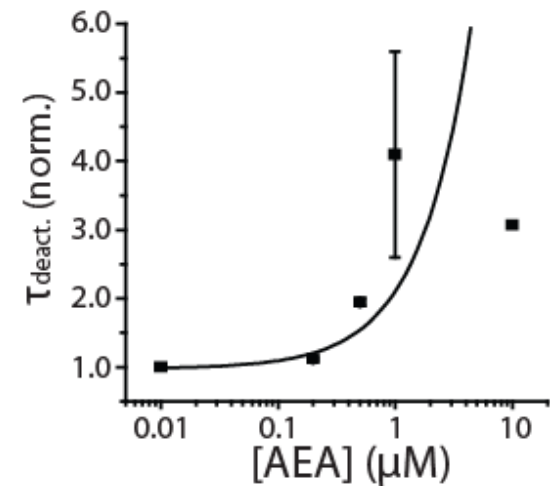
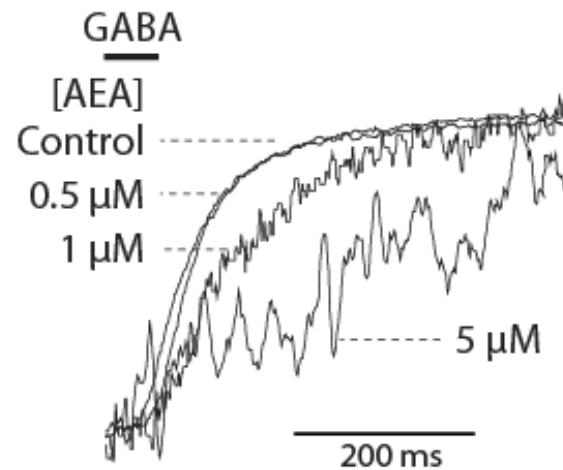
Для CB1 рецепторов $\text{EC}_{50} = 1400 \pm 300 \text{ nM}$

Дозозависимый эффект анандамида на десенситизацию и деактивацию ГАМК токов

десенситизация

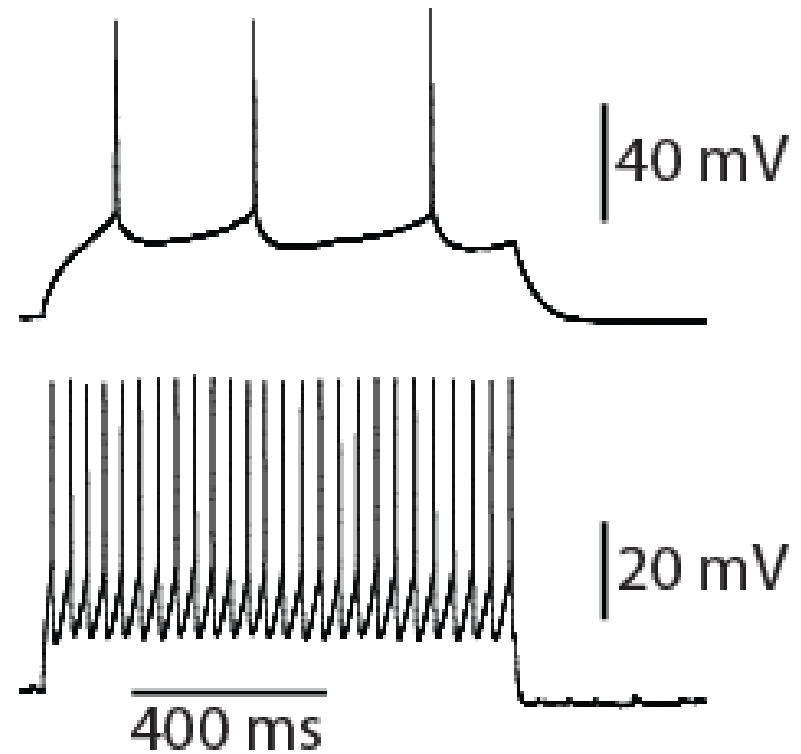
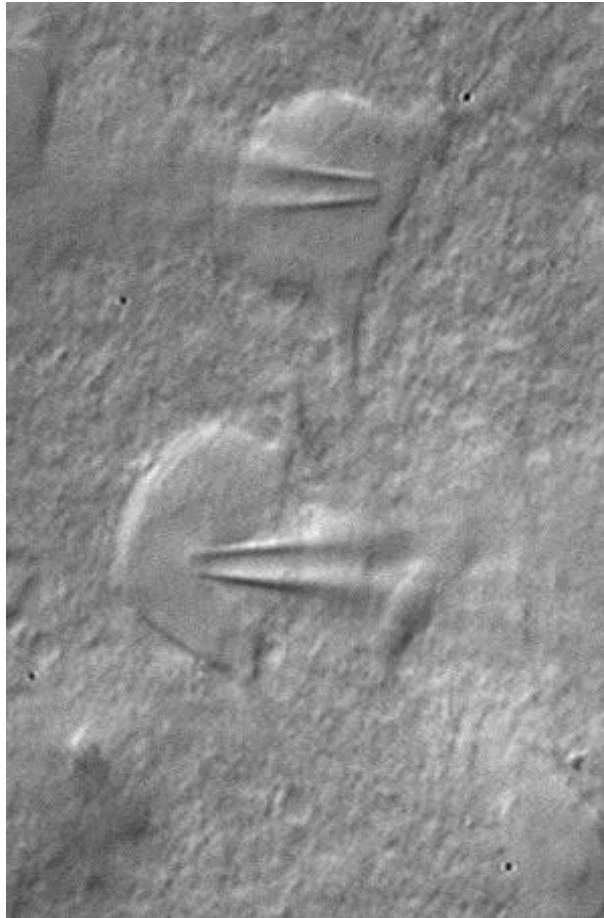


деактивация

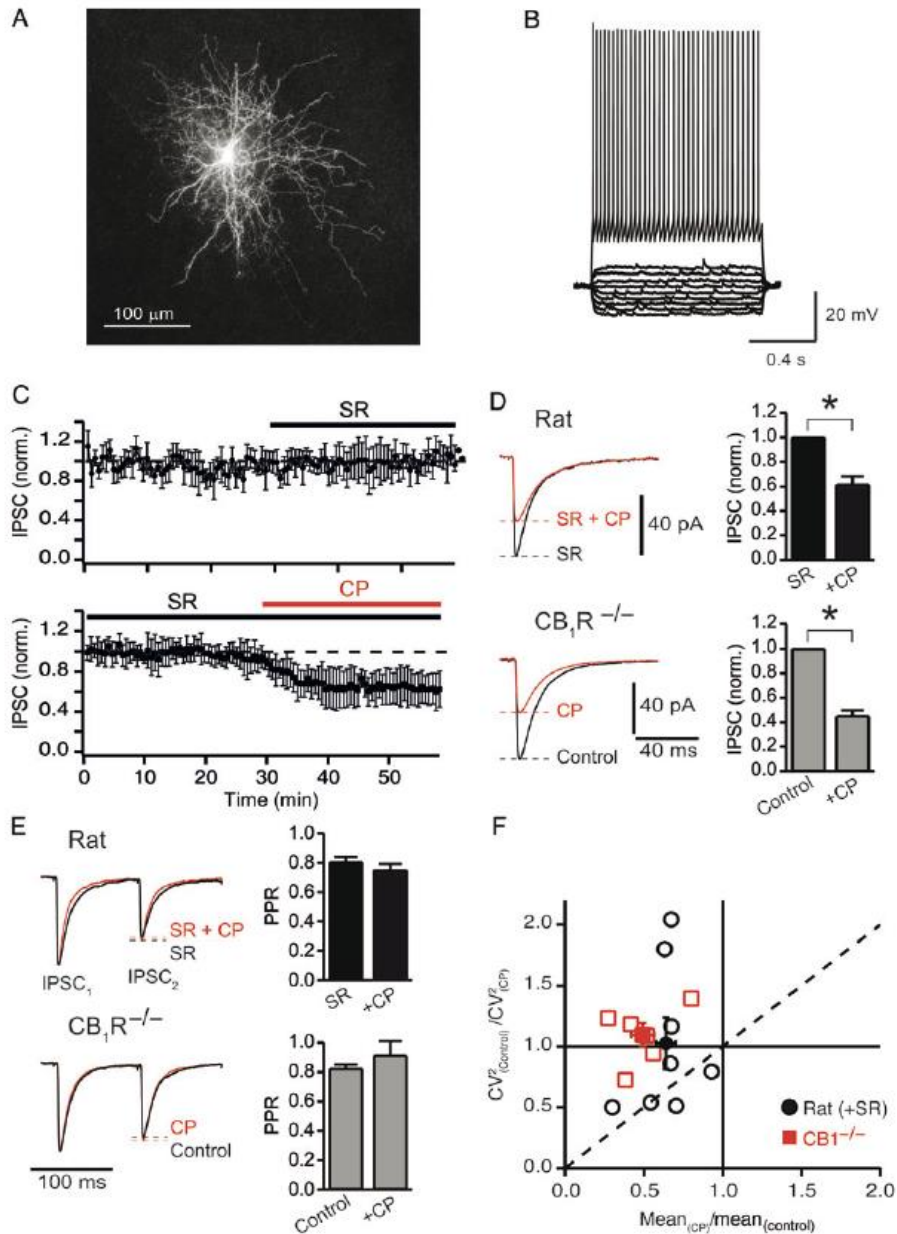


CB ₁ R				GABA _A R
Drug	K _i in Rat	E _{max}	EC ₅₀	IC50
	<i>nM</i>	<i>% Stimulation</i>	<i>μM</i>	
2-AG	470 ± 55 ^a	40 ± 8	2.8 ± 0.9	
Δ ⁹ -THC	41 ^b	40 ± 8	0.081 ± 0.034	
Cannabinol	308 ^c			
HU-210	0.73 ^c	110 ± 10	0.0029 ± 0.0014	
CP55940	0.58 ^c	120 ± 6	0.0061 ± 0.0015	2 μM
CP55244	0.11 ^c	120 ± 5	0.00012 ± 0.00011	
Anandamide	89 ± 10 ^d	91 ± 4	1.4 ± 0.3	0.9 μM
O-610	137 ± 13 ^d	45 ± 9	0.44 ± 0.20	
O-680	53 ± 15 ^d	92 ± 5	0.35 ± 0.27	
O-687	47 ± 3 ^d	74 ± 6	0.17 ± 0.17	
O-689	5.7 ± 12 ^d	94 ± 3	0.0072 ± 0.0065	
WIN55212-2	24 ^b	110 ± 9	0.17 ± 0.08	10 μM
JWH-030	87 ± 3 ^b	50 ± 1	0.30 ± 0.05	
JWH-031	399 ± 109 ^b	61 ± 1	0.92 ± 0.10	
JWH-032	> 10,000 ^b			
JWH-036	309 ± 11 ^b	33 ± 6	3.3 ± 2.2	
JWH-044	> 10,000 ^b			
JWH-045	> 10,000 ^b			
JWH-073	8.9 ± 1.8 ^b	59 ± 7	0.034 ± 0.018	
^a Mechoulam et al., 1995. ^b Wiley et al., 1998. ^c Griffin et al., 1998. ^d Adams et al., 1995.				
	WIN-3	inactive		active
	SR141716A	antagonist		similar as CB ₁ R agonist

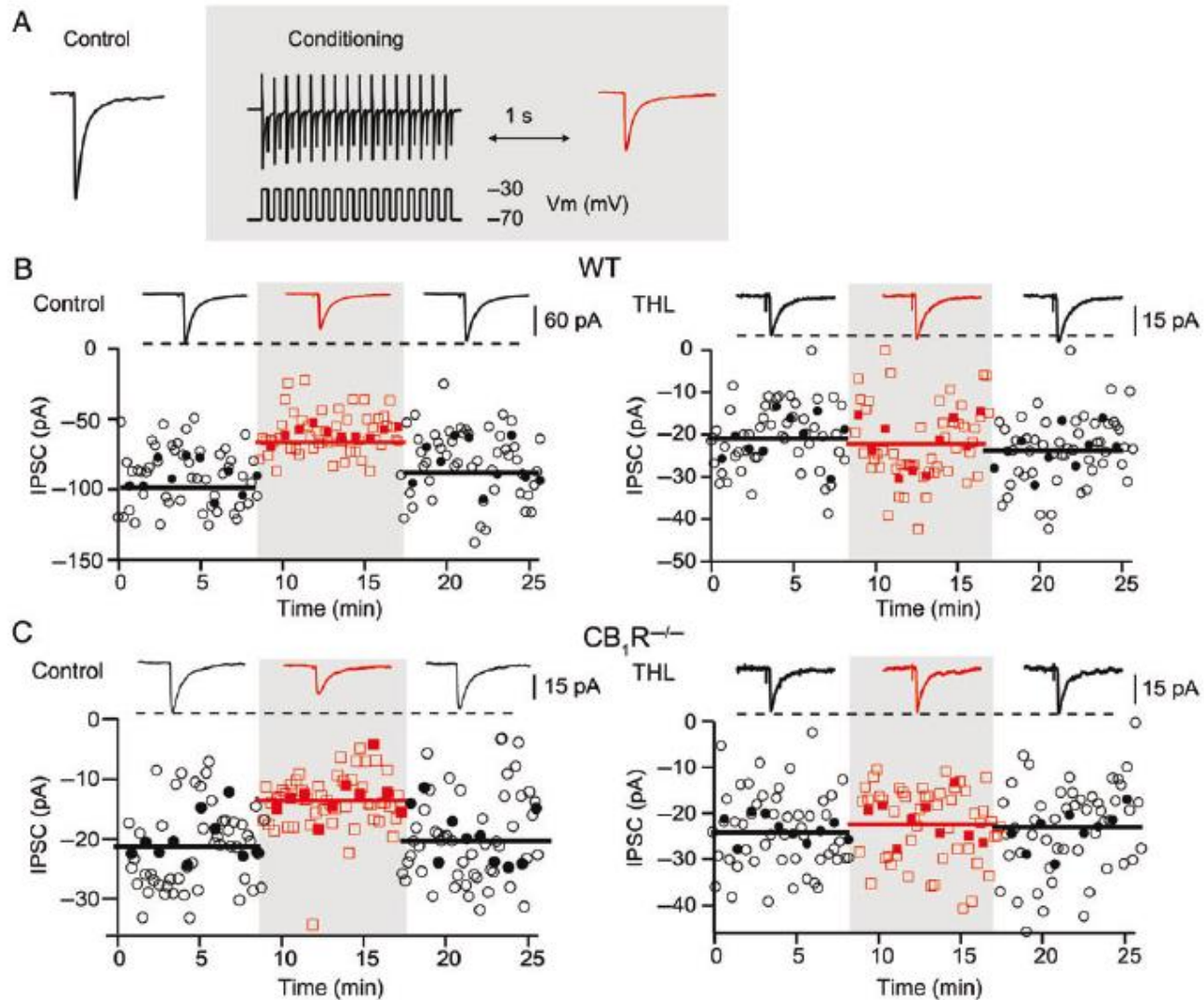
Модуляция каннабиноидами синаптических ГАМК токов в синапсах PV интернейронов на пирамидальные нейроны в слое L2/3 неокортекса



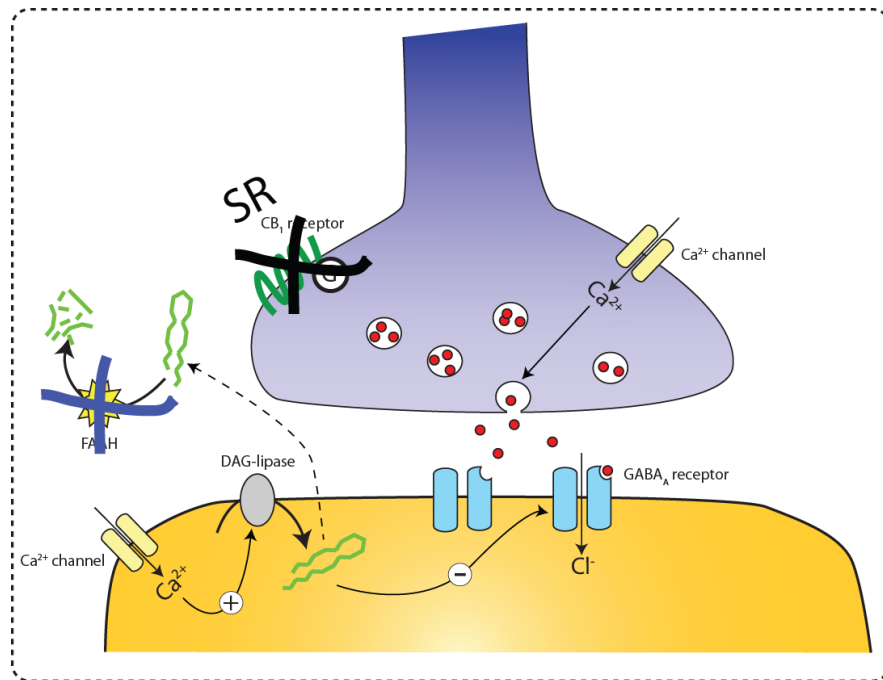
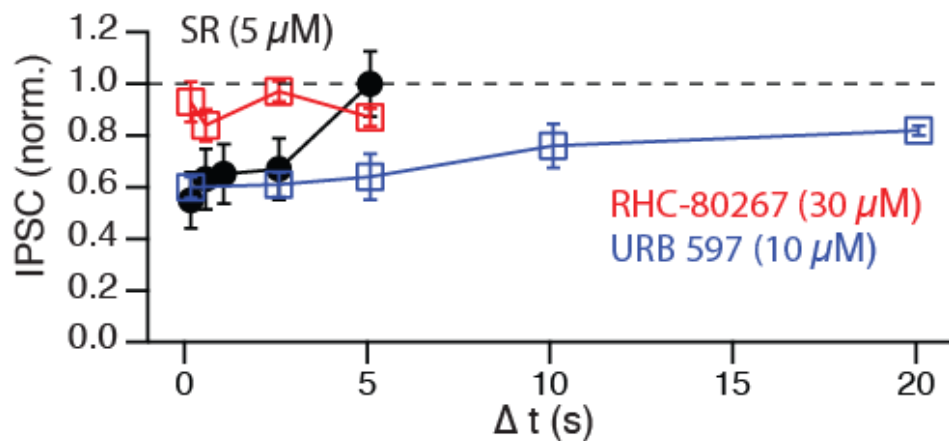
Модуляция синаптических ГАМК токов в синапсах PV интернейронов на пирамидальные нейроны в слое L2/3 неокортекса каннабиноидами (CP)



Модуляция синаптических ГАМК токов в синапсах PV интернейронов на пирамидальные нейроны в слое L2/3 неокортекса эндоканнабиноидами



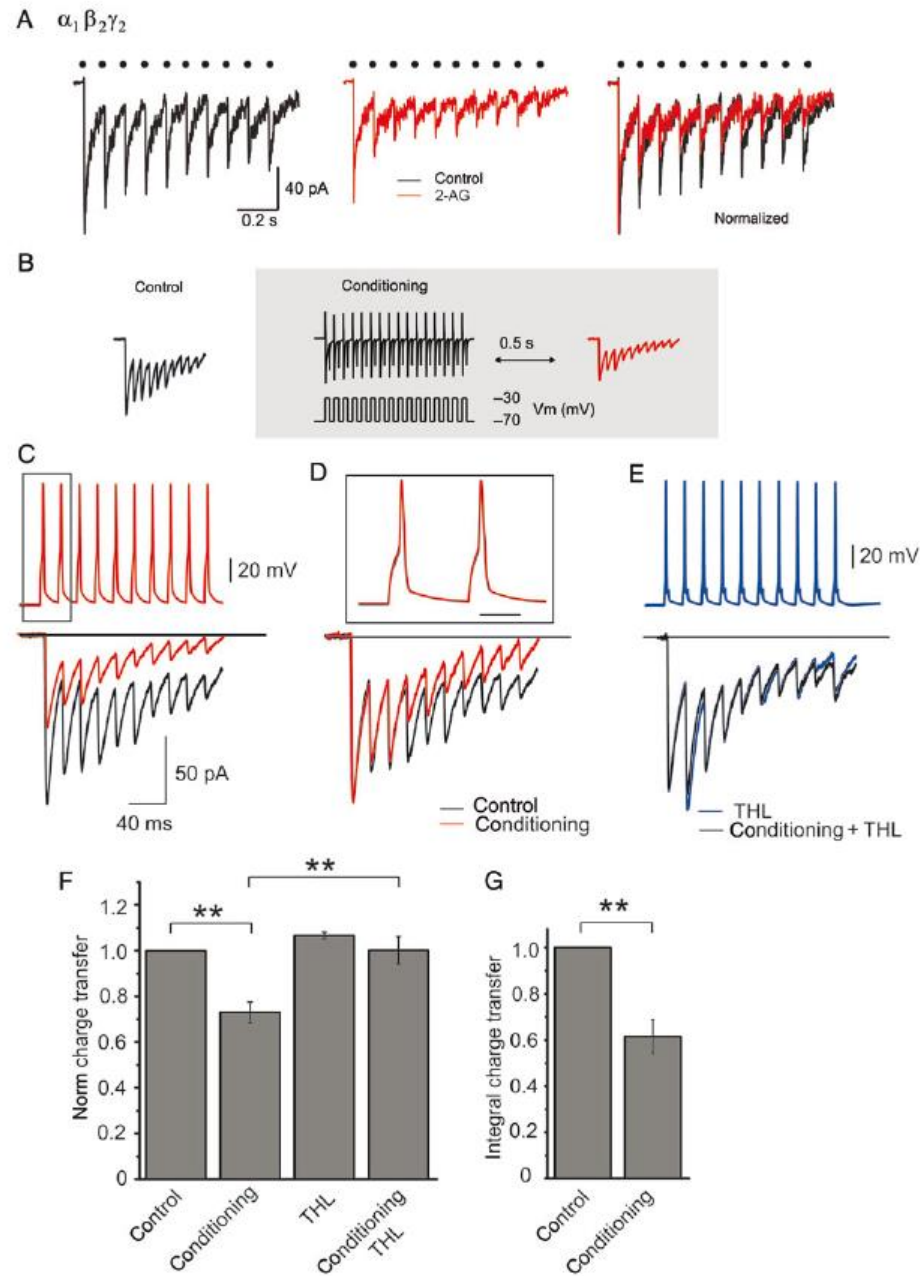
Модуляция постсинаптических рецепторов чувствительна к модуляции синтеза / деградации каннабиноидов



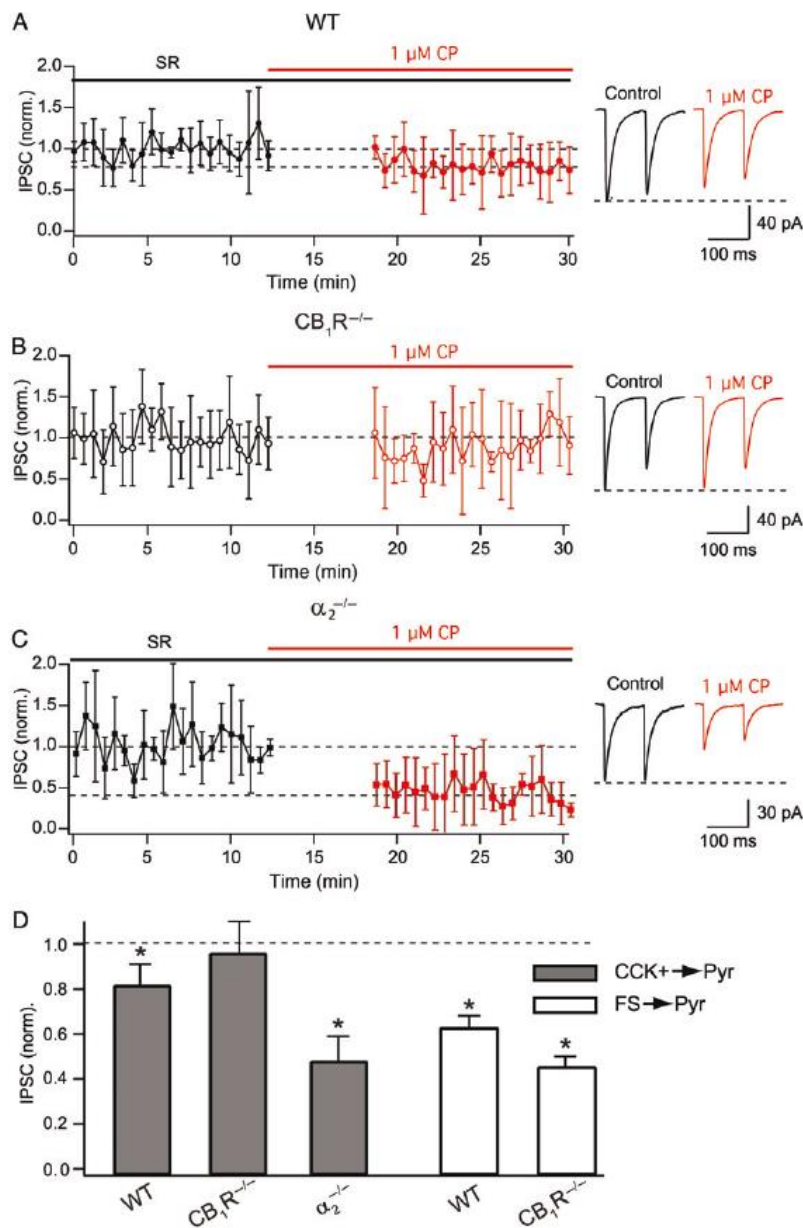
RHC-80267: блокирует синтез эндоканнабиноидов

URB 597: блокирует деградацию эндоканнабиноидов

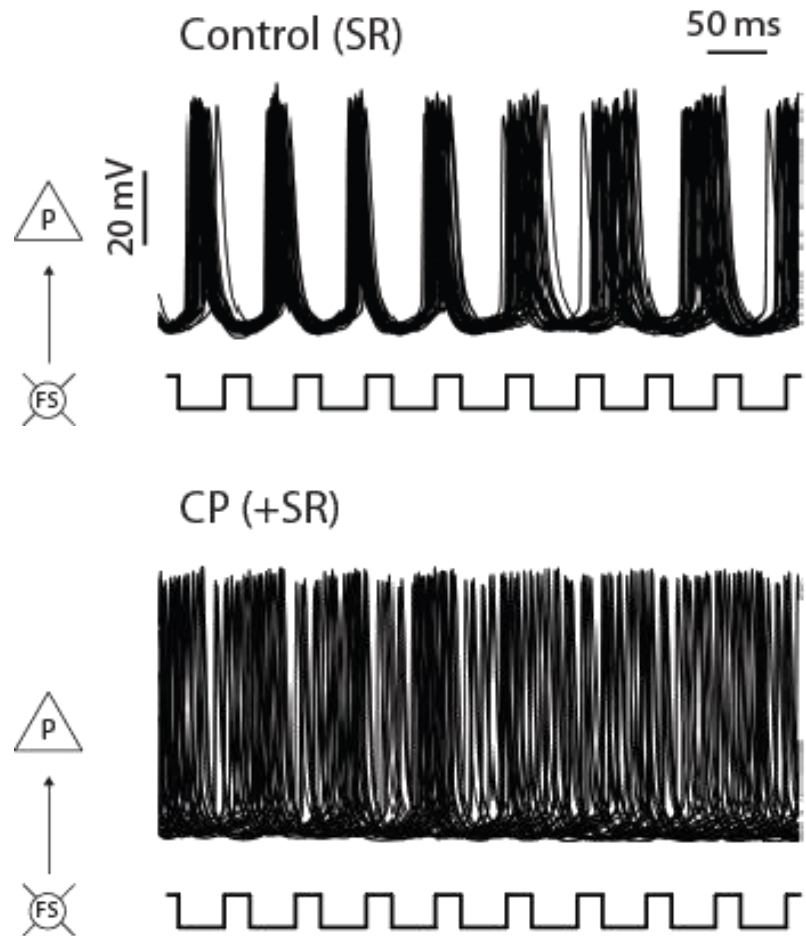
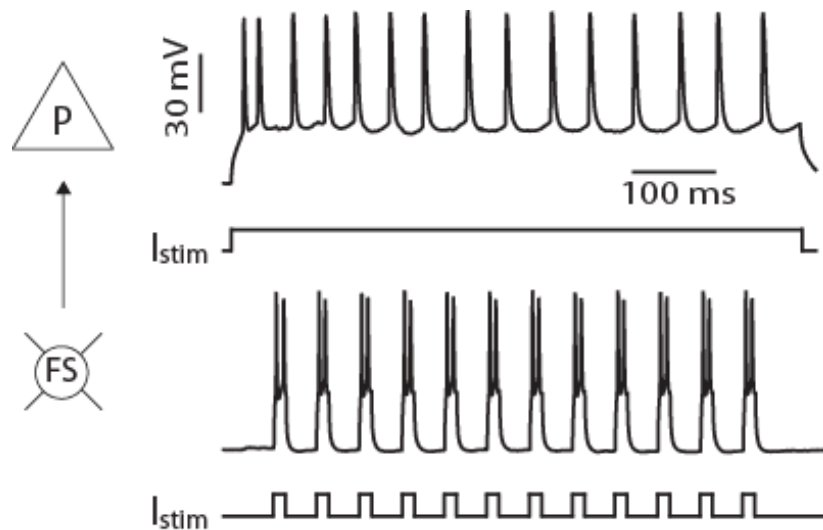
Усиление синаптической фильтрация тормозного входа эндоканнабиноидами



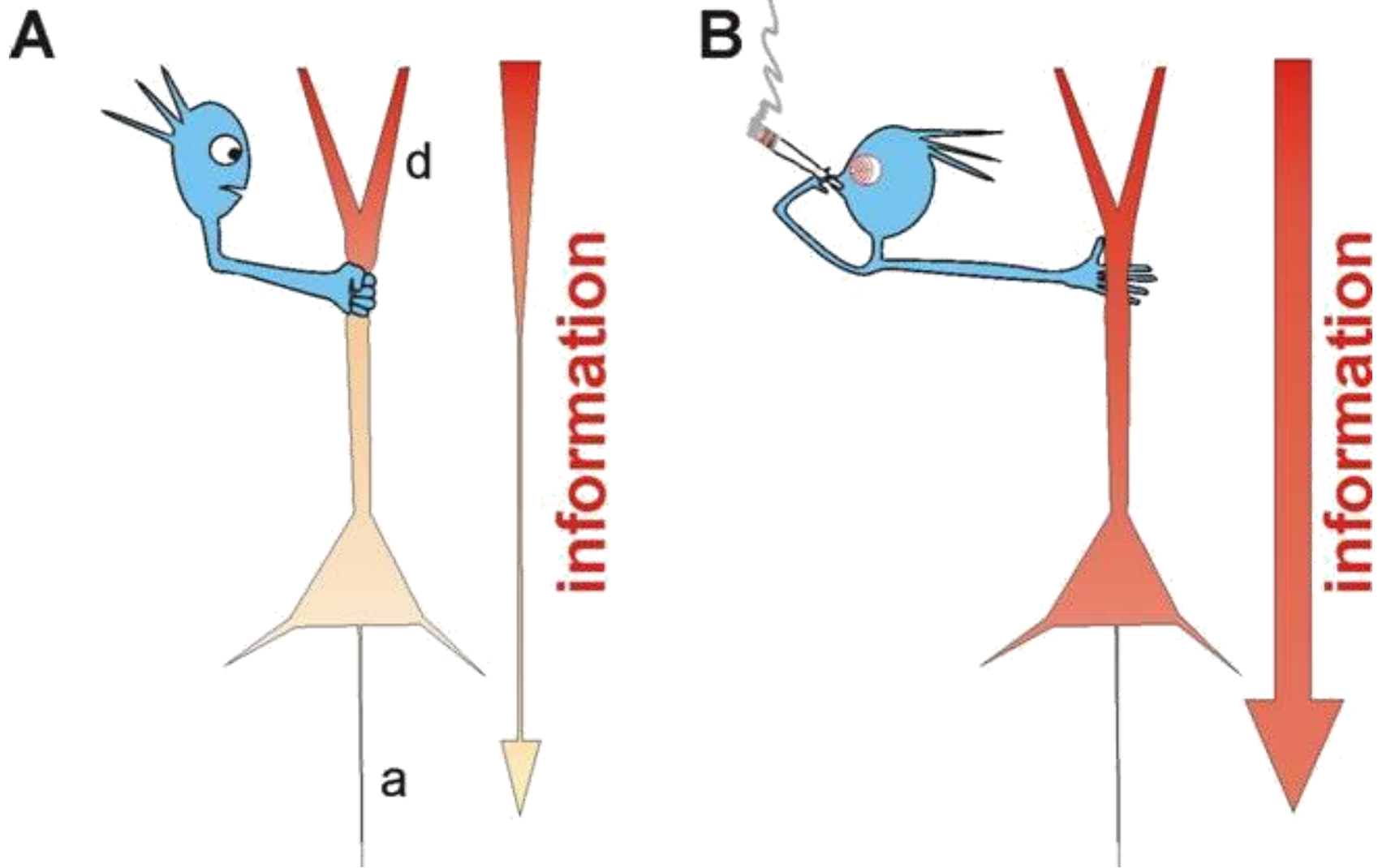
Отсутствие модуляции эндоканнабиноидами синаптических ГАМК токов в синапсах ССК интернейронов на пирамидальные нейроны в гиппокампе



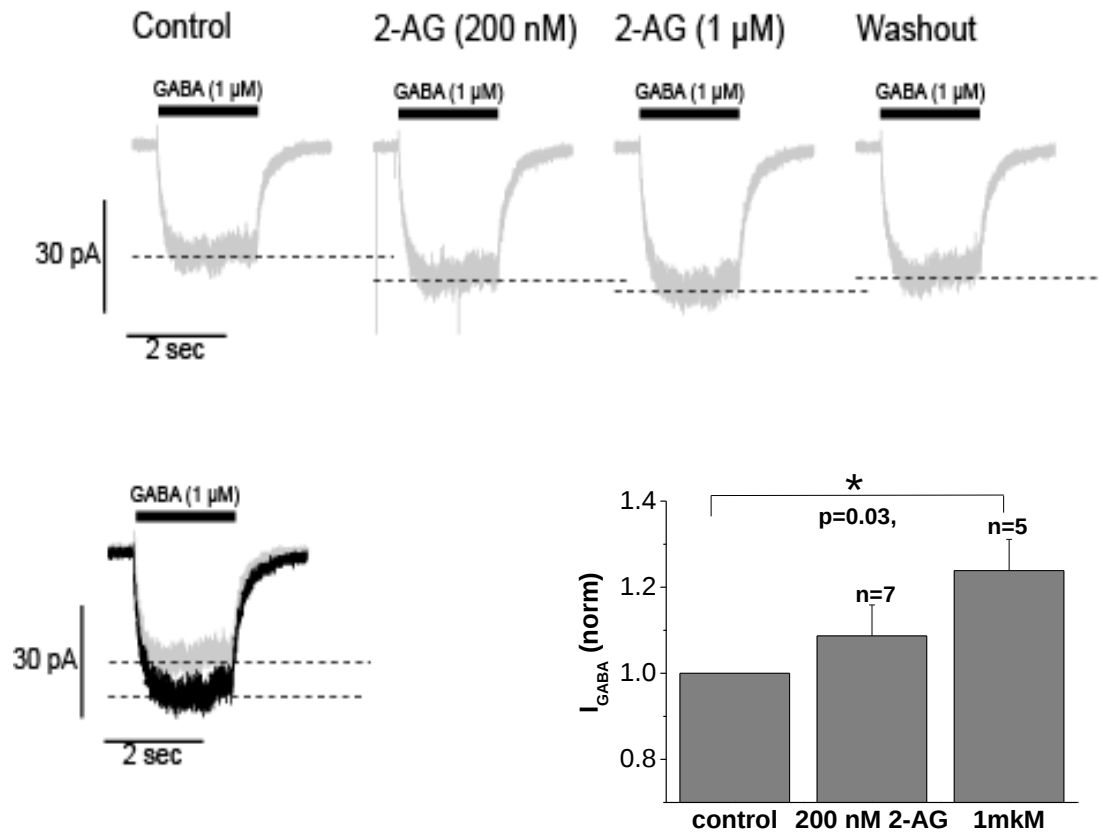
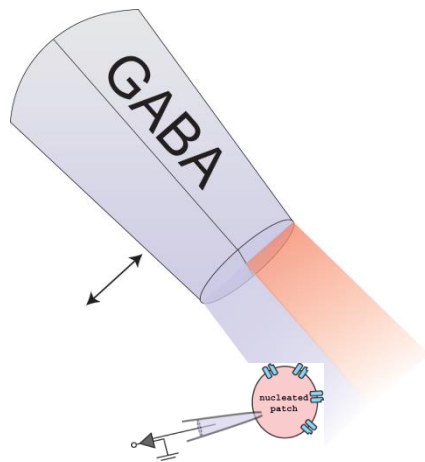
Разобшение каннабиноидами тормозного контроля основных нейронов интернейронами в локальных нейронных сетей



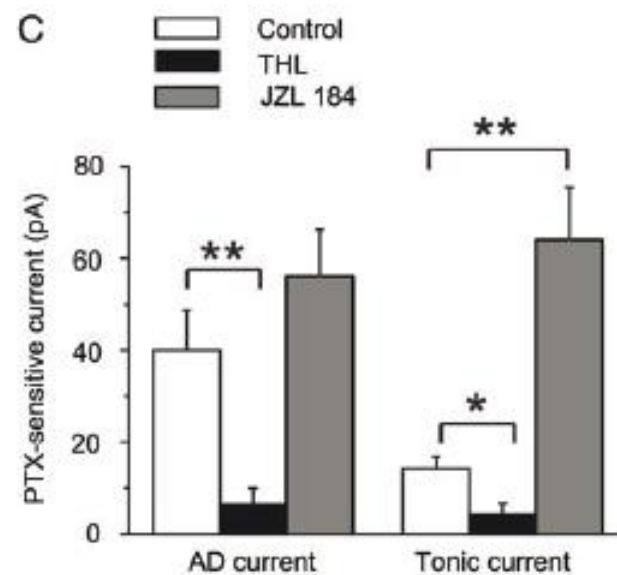
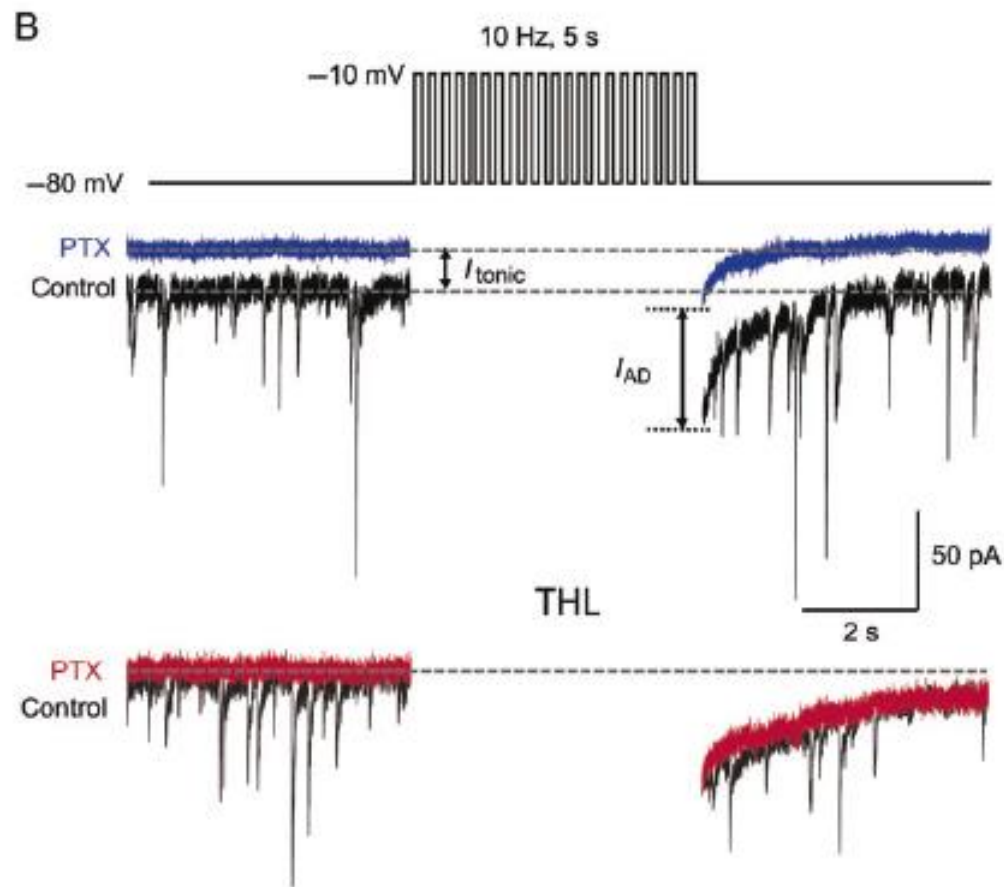
Таким образом, каннабиноиды влияют на обработку информации



Каннабиноиды вызывают потенциацию ГАМК токов, индуцированных низкой концентрацией ГАМК

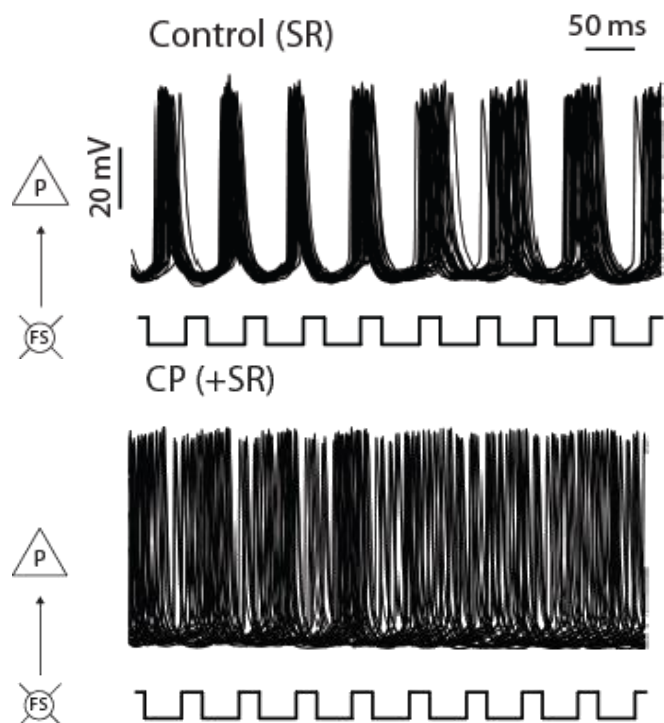


Каннабиноиды вызывают потенциацию экстрасинаптических (тонических) ГАМК токов

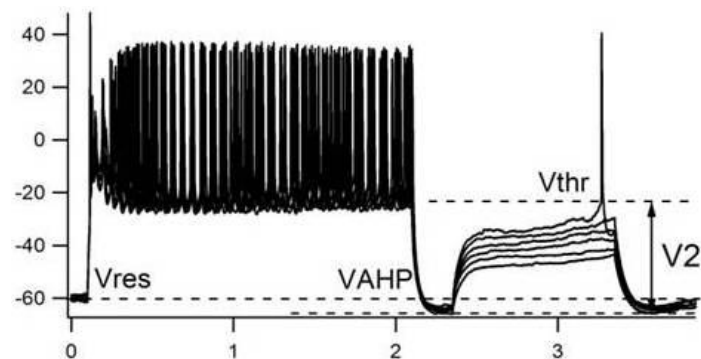


CB1R независимое противозепептические действие каннабиноидов

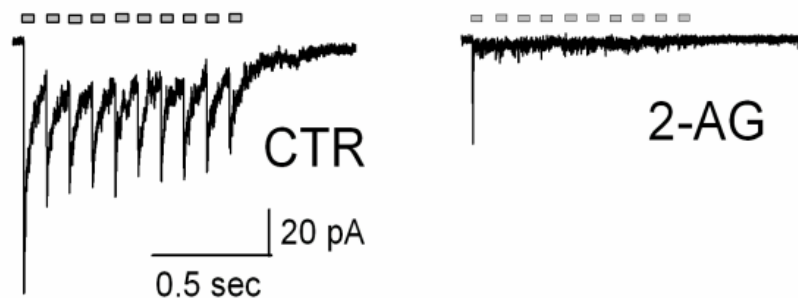
Ингибирование фазового ответа ГАМК прерывает гиперсинхронизацию



Увеличение тонического тока ГАМК уменьшает порог возбудимости

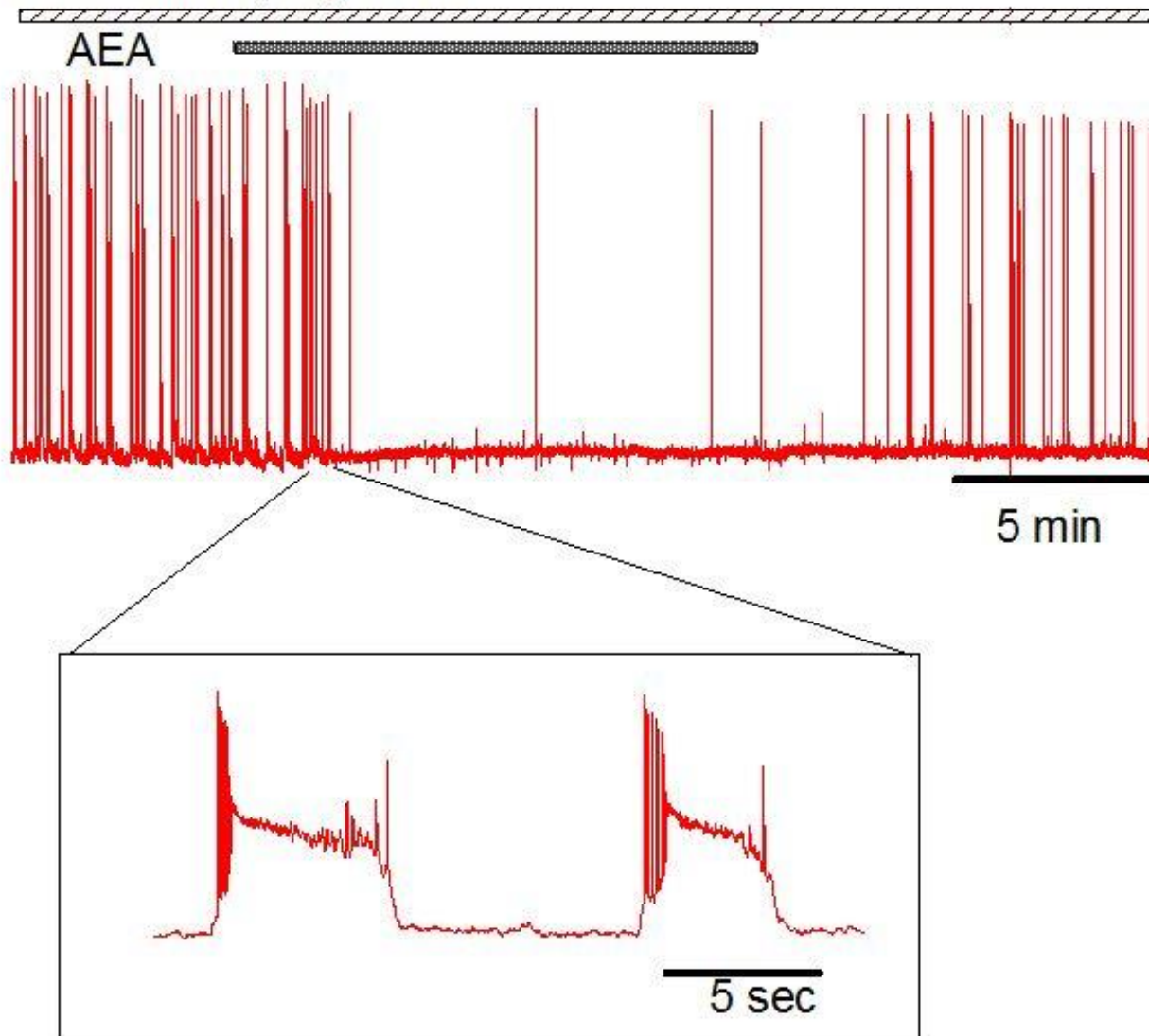


Увеличение десенситизации ГАМК рецепторов приводит к синаптической фильтрации тормозного входа



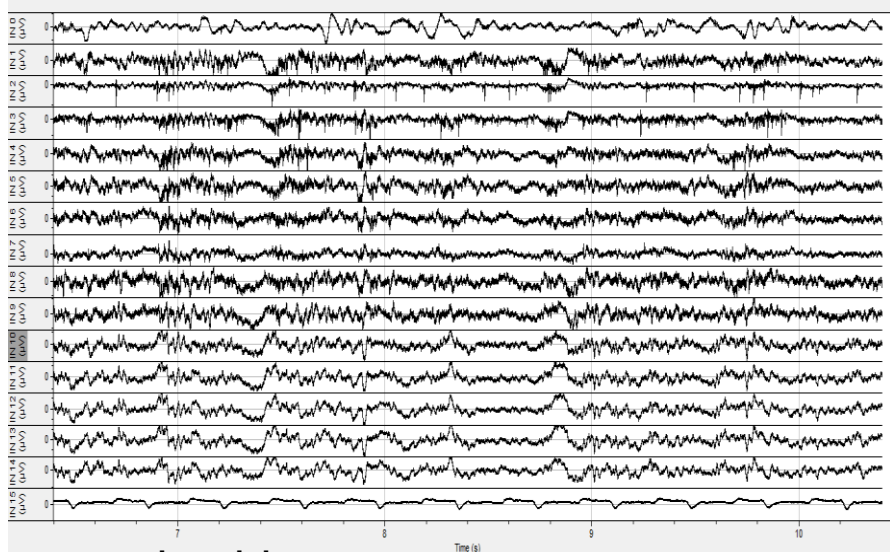
CB1R независимое противоэпилептическое действие каннабиноидов *in vitro*

PTX 16mkM, Mg 2+ 0

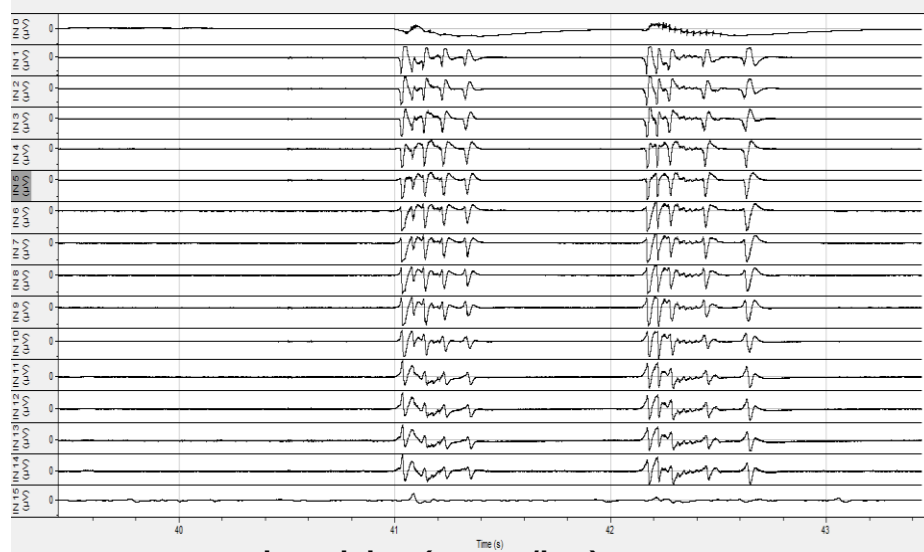
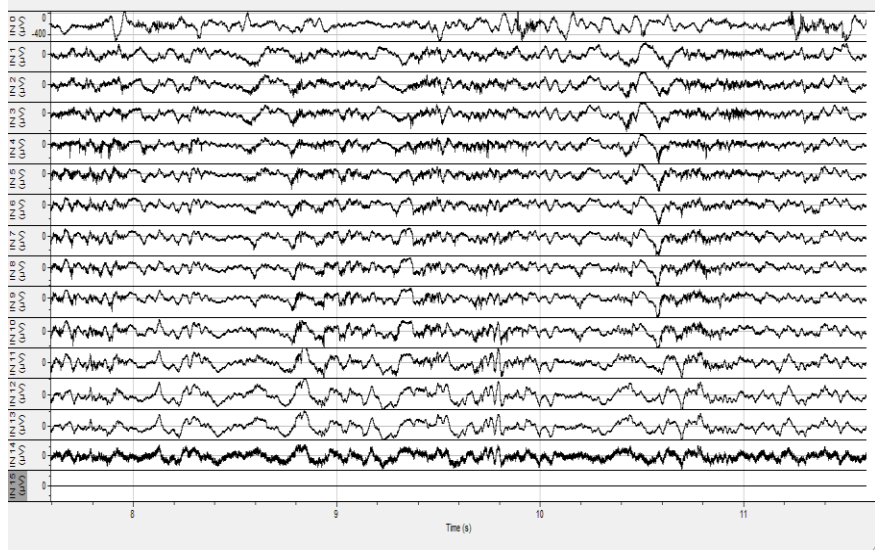


CB1R независимое противоэпилептическое действие каннабиноидов *in vivo*

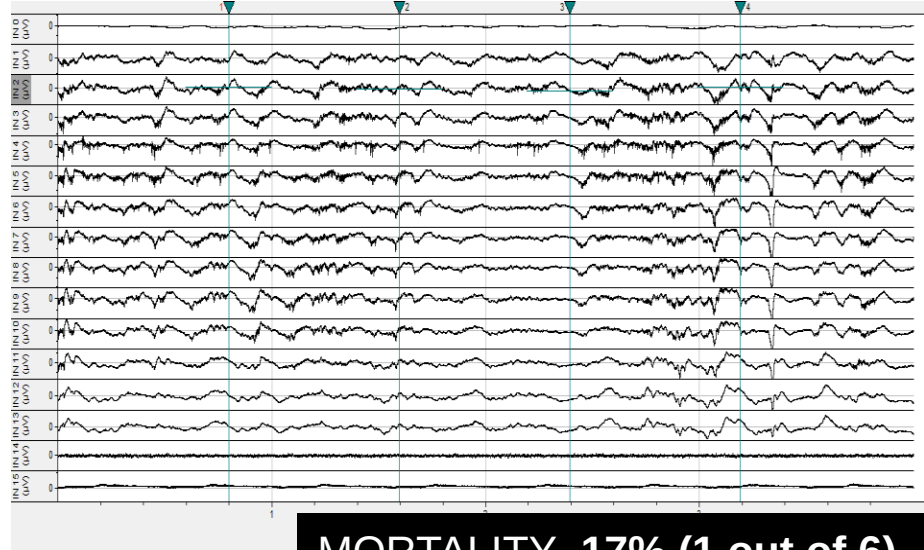
MORTALITY 88% (7 out of 8)%



Anandamide



PTX+Anandamide (5mg/kg)



MORTALITY 17% (1 out of 6)