УДК 547.96:577.15:616.45-006

УЧАСТЬ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ, ПРОТЕЇНКІНАЗ А ТА С У РЕАЛІЗАЦІЇ ДІЇ N-АЦИЛЕТАНОЛАМІНІВ В АДРЕНОКОРТИКАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ЛЮДИНИ

О. І. КОВЗУН[1], Н. І. ЛЕВЧУК[1], Н. М. ГУЛА[2], О. С. МИКОША[1]

[1]Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, Київ;
[2]Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: endo@i.kiev.ua

Досліджували роль систем вторинних посередників у перенесенні регуляторних сигналів етаноламінів, N-ацильованих сумішшю жирних кислот (NAE), в корі надниркових залоз. Аналіз механізмів реалізації ефектів NAE проводили в експериментах in vitro на післяопераційній адренокортикальній тканині людини. Досліджено вплив суміші NAE на рівень cAMP і cGMP, активність протеїнкіназ А та С у субклітинних фракціях адренокортикоцитів і гомогенатах умовно нормальних тканин кори надниркових залоз. Показано, що під впливом N-ацильованих похідних етаноламінів спостерігається зниження рівня cAMP в адренокортикальних клітинах. Рівень cGMP за цих умов залишається незмінним. Виявлено підвищення активності протеїнкінази С за впливу in vitro суміші N-ацилетаноламінів (3,3 мкг/мл) у мікросомній фракції і зниження активності cAMP-залежної протеїнкінази А в цитозольній фракції адренокортикоцитів. Зроблено висновок, що активація стероїдогенезу в корі надниркових залоз N-ацилетаноламінами може бути обумовлена активацією протеїнкінази С, а гальмування – cAMP-залежною месенджерною системою.

Ключові слова: N-ацилетаноламіни, адренокортикоцити, cAMP, cGMP, протеїнкіназа А, протеїнкіназа С.

Протягом останнього десятиріччя увагу дослідників привертають N-ацилетаноламіни (NAE) – біологічно активні сполуки, молекули яких складаються з етаноламіну, ацильованого за азотом залишками різних жирних кислот. Зацікавленість цими сполуками різко зросла після виявлення їх в інфарктній зоні міокарда [1] та визначення здатності одного з представників NAE – N-арахідоноїлетаноламіну – зв'язуватись з рецепторами канабіноїдів у мозку [2]. Після встановлення цього факту NAE почали називати ендоканабіноїдами. Властивості NAE, які містять насичені та ненасичені жирні кислоти, істотно відрізняються. Відомо, що вміст 2-арахідоноїлгліцеролу – одного з ендогенних канабіноїдів – збільшується у клітинах гіпоталамуса під час хронічного стресу, але знижується при гострій стресовій відповіді [3]. Застосування синтетичних агоністів і антагоністів рецепторів канабіноїдів – CB1 – і визначення вмісту в гіпоталамусі 2-арахідоноїлгліцеролу дозволило встановити наявність негативного зворотного зв'язку між активністю гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи (ГГАС) і ендоканабіноїдної сигнальної системи [3]. Однак ендоканабіноїди можуть регулювати секрецію кортикостероїдів не тільки на рівні гіпоталамуса і гіпофіза, але й прямо модулюючи секрецію гормонів залозою [4–6]. За присутності in vitro N-ацильованих похідних етаноламіну в концентрації 10^{-5} М підвищується включення міченого холестеролу в кортикостерон та альдостерон, синтезовані зрізами кори надниркових залоз [4]. Утворення 11-гідроксикортикостероїдів зрізами надниркових залоз щурів при додаванні N-стеароїлетаноламіну NAE 18:0 може як зростати [4], так і знижуватись [5].

Завдяки ліпотропним властивостям N-ацилетаноламіни добре поглинаються збагаченими на ліпіди тканинами, в тому числі адренокортикальною. Встановлено, що розподіл введеного щурам міченого N-пальмітоїлетаноламіну свідчить про переважне його включення саме до надниркових залоз [7]. Залишкова кількість розподіляється між іншими органами, такими як селезінка, нирки, легені, печінка, серце, мозок. Автори зробили висновок, що надниркові залози є важливою мішенню для дії NAE і, оскільки стероїдогенез є основною функцією цих залоз, відіграють важливу роль у синтезі кортикостероїдних гормонів [7]. Очевидно, що канабіноїди можуть впливати

на функцію кори надниркових залоз як прямо, так і опосередковано через гіпоталамо-гіпофізарну систему. В багатьох роботах показано, що фармакологічні дози синтетичних або ендогенних канабіноїдів зумовлюють зростання АКТГ і глюкокортикоїдів, які циркулюють у крові [8–12]. Водночас показано, що in vivo концентрація кортикостерону збільшується також внаслідок блокади канабіноїдних рецепторів антагоністом SR141716. Крім того, введення цього антагоніста за 30 хв до застосування стресорного чинника призводить до 10-кратного збільшення секреції кортикостерону порівняно з базальними умовами [3]. Введення NAE тваринам, яких піддавали стресу, призводило до паралельного зниження рівнів АКТГ і сумарних 11-гідроксикортикостероїдів [6]. Отже, залежно від умов канабіноїди здатні спричиняти протилежні ефекти на ГГАС – посилювати або пригнічувати реакцію організму на стресорні чинники.

Механізм дії NAE залишається до кінця нез'ясованим. Вважається, що вони можуть діяти, безпосередньо активуючи канабіноїдні рецептори. В багатьох органах і тканинах встановлено наявність рецепторів канабіноїдів двох типів – нейрональних і периферичних (CB1 і CB2 відповідно) [13, 14]. Знайдено їх і в надниркових залозах людини [15], але, на думку U. Pagotto і співавторів [14], немає даних щодо прямих ефектів канабіноїдів на ці органи. Зв'язуючись з канабіноїдними рецепторами, NAE можуть бути залучені до систем перенесення регуляторних сигналів. Найбільш вивченим механізмом перенесення сигналів від канабіноїдних рецепторів CB1 є пригнічення аденілатциклазної активності [16, 17]. Установлено, що активація канабіноїдних рецепторів, спряжених із $G_{(i/0)}$-субодиницею GTP-зв'язувального білка, призводить до інгібування аденілатциклази і пригнічення ефектів, залежних від cAMP-залежної протеїнкінази А (ПКА). Водночас N-ацилетаноламіни здатні активувати інші протеїнкінази. Особливу увагу дослідників привернула протеїнкіназа С (ПКС) [18, 19], активація якої анандамідом може здійснюватись як через CB2-тип канабіноїдних рецепторів [18], так і нерецепторним шляхом [19]. Без участі рецепторного G-білка N-ацильовані етаноламіни стимулюють фосфорилювання MAP-кінази ERK. Опосередковане через канабіноїдні рецептори фосфорилювання також має місце, але ним забезпечується лише частка від загального фосфорилювання ERK, однак при цьому не реалізується вплив на активацію фактора транскрипції AP-1 [20].

Висока біологічна активність NAE, різноспрямованість їхніх впливів та наявні відомості про здатність їх регулювати функцію кори надниркових залоз визначили мету наших досліджень: оцінити участь циклічних нуклеотидів, протеїнкіназ А і С у реалізації ефектів N-ацилетаноламінів в адренокортикальних клітинах.

Матеріали і методи

Проведення експериментів узгоджено з Комітетом з біоетики Інституту ендокринології та обміну речовин. Досліди проведено на умовно нормальних тканинах кори надниркових залоз 12 хворих, прооперованих у клініці інституту. Всі тканини виявилися пухлинами різних типів. Із ділянок візуально незміненої тканини кори надниркових залоз, що межує з пухлинною (умовно нормальна тканина), на льоду готували зрізи, інкубували їх в 1 мл середовища 199 (Державний завод медичних препаратів, Україна), що містило 20 мМ HEPES, pH 7,4 («Calbiochem», США) та 2 мг/мл бичачого сироваткового альбуміну («Serva», Німеччина) при 37 °С та постійному струшуванні.

Як препарат NAE використовували суміш N-ацилетаноламінів, синтезовану в Інституті біології моря (Владивосток, Російська Федерація) д.б.н. В. Є. Васьковським. Більше 60% такої суміші складають ацили ненасичених жирних кислот: 6,3% арахідонової; 1,8% лінолевої; 7,6% гондової; 18,4% олеїнової; 6,4% пальмітоолеїнової; 16,7% ейкозапентаєнової; 2,7% докозагексаєнової; близько 30% складають ацили насичених жирних кислот: 6,4% міристинової; 22,4% пальмітинової; 3,0% стеаринової; 1,0% арахінової; 1,4% бегенової. До середовища інкубації додавали спиртовий розчин суміші NAE в кінцевій концентрації 0,3–33 мкг/мл. Контрольні проби містили розчинник у відповідній концентрації. Селективний інгібітор ПКС – хлорид хелеретрину («Sigma», США) – вносили до інкубаційного середовища в кінцевій концентрації 1, 5 та 25 мкМ.

Після інкубації (37 °С, 2 год) зрізи гомогенізували в буфері, який містив 250 мМ сахарозу, 25 мМ трис-HCl (pH 7,4) та 4 мМ ЕДТА. Вміст cAMP і cGMP визначали, використовуючи радіоімунологічні набори TRK-432 та TRK-500 згідно з рекомендаціями виробника («Amersham», Велика Британія).

У середовищі інкубації проводили кількісне визначення 11-гідроксикортикостероїдів (11-ОКС) за методом, описаним у роботі [21]. Як стандарт використовували гідрокортизон.

Активність ПКС і ПКА в цитозольній та мікросомальній фракціях визначали, як опи-

сано раніше [22], за зміною напрямку руху в агарозному гелі високоспецифічних лужних субстратів цих ферментів – нейрограніну та кемптиду («Sigma», США), фосфорильованих протеїнкіназами [23, 24]. Аналогічно визначали активність ферментів у гомогенатах кори надниркових залоз (фракція, одержана після центрифугування при 2000 g 10 хв).

Інкубаційне середовище для визначення активності ПКС містило 20 мМ трис-HCl (pH 8,0); 0,5 мМ $CaCl_2$; 1 мМ АТР; 6 мМ Mg-ацетат; 20 мкг/мл фосфатидилсерину; 0,1 мМ лейпептин; 10 мкг нейрограніну та 10 мкг білка досліджуваних субклітинних фракцій або гомогенату в 10 мкл реакційної суміші.

Інкубаційне середовище для визначення активності ПКА містило: 20 мМ трис-HCl (pH 8,0); 10 мМ $MgCl_2$; 1 мМ АТР; 1 мкМ cAMP; 0,1 мМ лейпептин; 10 мкг кемптиду та 10 мкг білка субклітинних фракцій або гомогенату в 10 мкл реакційної суміші.

Активність ПКС виражали в нмолях нейрограніну, фосфорильованого протеїнкіназою С за 1 хв на 1 мг білка, ПКА – в нмолях кемптиду, фосфорильованого протеїнкіназою А за 1 хв на 1 мг білка.

Статистичний аналіз одержаних даних проводили за критерієм Стьюдента, Фішера і Вілкоксона–Манна–Уїтні.

Результати та обговорення

Аналіз впливу етаноламінів, N-ацильованих сумішшю жирних кислот, на продукцію cAMP корою надниркових залоз людини залежно від їхньої концентрації, показано на рис. 1. У контрольних пробах вміст cAMP становить 0,200 ± 0,012 пмоль/мг тканини. При концентрації NAE 0,3 мкг/мл спостерігається помітне зниження вмісту cAMP в адренокортикальній тканині, при подальшому збільшенні концентрації NAE вміст cAMP продовжує зменшуватись і становить 0,083 ± 0,005 пмоль/мг тканини при 33 мкг NAE в 1 мл. Рівень cGMP за цих умов залишається незмінним (рис. 1).

Пригнічення активності аденілатциклази у клітинах нервової системи є найбільш дослідженим механізмом перенесення регуляторних сигналів від канабіноїдних рецепторів типу CB1 (і дещо менше від CB2) [16, 17]. За впливу 2-арахідоноїлгліцеролу, який здатен зв'язуватись з канабіноїдними рецепторами тромбоцитів крові людини, рівень cAMP знижується вдвічі [25].

Аденілатциклаза і cAMP-залежна протеїнкіназа А відіграють виключно важливу роль у перенесенні регуляторного сигналу кортикотропіну в адренокортикоцитах [22, 26].

Проте немає жодного повідомлення щодо зміни активності аденілатциклази і рівня cAMP в адренокортикальній тканині під впливом NAE.

За нашими попередніми даними при інкубації зрізів надниркових залоз щурів-самок у присутності 10^{-5} М суміші NAE включення міченого [^{3}H]-холестеролу в альдостерон і кортикостерон зростає [4]. Цей ефект не спостерігається у присутності 10^{-6} М етаноламінів, N-ацильованих сумішшю жирних кислот, а мічення кортикостерону у присутності 10^{-6} М N-стеароїлетаноламіну дещо знижується. Під впливом NAE синтез 11-ОКС надниркovими залозами щурів-самок зростає [4], в той час як надниркові залози самців продукують менше 11-ОКС [5]. Завдяки одержаним результатам щодо гальмування продукції cAMP в адренокортикальній тканині з'явилась можливість

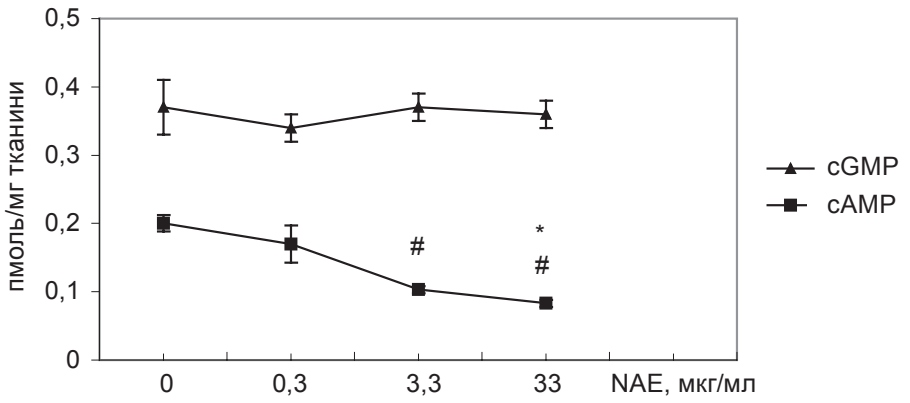

*Рис. 1. Вплив різних концентрацій етаноламінів, N-ацильованих сумішшю жирних кислот (NAE), на рівень cAMP і cGMP у тканині надниркових залоз людини. * Вплив є вірогідним за критерієм Фішера, $P < 0,01$, # вірогідність впливу NAE за критерієм U Вілкоксона–Манна–Уїтні, $P < 0,05$; $n = 4–5$.*

пояснення цих розбіжностей. Очевидно, що в експериментах in vitro виникає можливість гальмування аденілатциклази за дії 10^{-6} М NAE, що і призводить до зниження синтезу 11-ОКС. Можливо, модуляція стероїдогенезу за таких умов відбувається також за рахунок зміни активності ПКС.

Для з'ясування цих протиріч ми провели пряме дослідження активності ферментів ПКА і ПКС у субклітинних фракціях адренокортикоцитів під впливом NAE.

Вплив суміші N-ацильованих похідних етаноламіну на активність ПКА в субклітинних фракціях кори надниркових залоз людини показано на рис. 2. В цитозольній фракції клітин спостерігається вірогідне зниження активності цього ферменту, починаючи з 3,3 мкг/мл NAE. При збільшенні концентрації NAE до 33 мкг/мл протеїнкіназна активність (8,0 ± 0,9 нмоль/хв на 1 мг білка) знижується на 34% порівняно з контрольними пробами (12,2 ± 1,3 нмоль/хв на 1 мг білка). В концентрації 0,3–33 мкг/мл NAE не призводять до зміни активності ПКА в мембранній фракції адренокортикоцитів.

За внесення суміші NAE до середовища інкубації ні в одній з досліджуваних концентрацій вони не впливають на активність ПКС в цитозольній фракції клітин кори надниркових залоз (рис. 2). У мембранній фракції спостерігається зростання протеїнкіназної активності з 7,5 ± 0,4 до 11,1 ± 1,7 нмоль/хв на 1 мг білка тільки при концентрації 3,3 мкг/мл NAE. Раніше була показана можливість активації ПКС у тканині мозку анандамідом in vitro без участі рецепторів [19]. Автори вважають, що анандамід здатен зв'язуватись з регуляторним сайтом ферменту, який взаємодіє з ДАГ, оскільки активаторна дія діолеоїлгліцеролу за присутності анандаміду знижується. Захисна дія ендоканабіноїдів пальмітоїлгліцеролу і 2-арахідоноїлгліцеролу на міокард при ішемії/реперфузії здійснюється через CB2-рецептори і опосередковується активацією ПКС [18].

Використання селективного інгібітора протеїнкінази С хелеретрину хлориду в кінцевій концентрації 25 мкМ (але не менше) повністю усуває стимульовану N-ацилетаноламінами активацію ПКС у гомогенатах кори надниркових залоз (рис. 3).

Аналізуючи вплив NAE на функцію надниркових залоз необхідно враховувати можливість їхньої дії як на центральні ланки нервової системи (на секрецію АКТГ), так і прямий ефект на надниркові залози. Саме в цьому випадку вплив NAE може бути опосередкований рецепторами канабіноїдів або мати мембранотропну природу. Важливу роль при цьому буде відігравати структура NAE, тому що насичені ацили NAE не здатні зв'язуватись з відомими рецепторами канабіноїдів.

Можуть обговорюватись різні механізми дії N-ацильованих похідних етаноламінів на

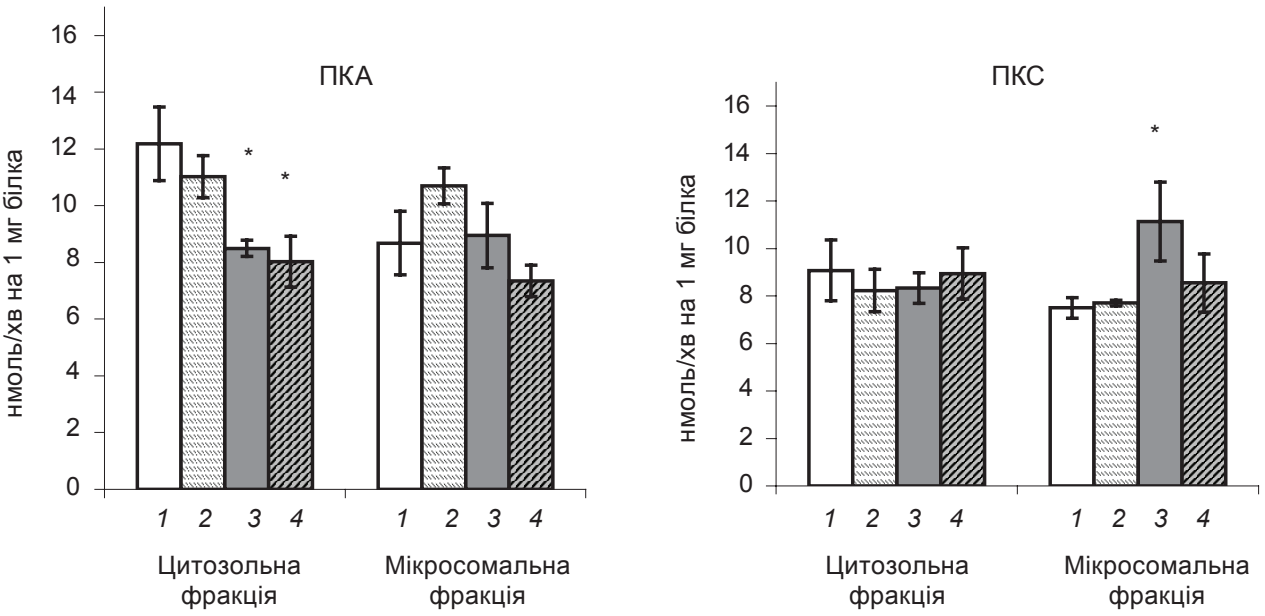

*Рис. 2. Вплив суміші NAE на активність ПКА та ПКС у субклітинних фракціях кори надниркових залоз людини: 1 – контроль; 2 – 0,3 мкг NAE/мл; 3 – 3,3 мкг NAE/мл; 4 – 33 мкг NAE/мл. * Вірогідно по відношенню до контролю, $P < 0,05$ за критерієм Стьюдента, $n = 4$.*

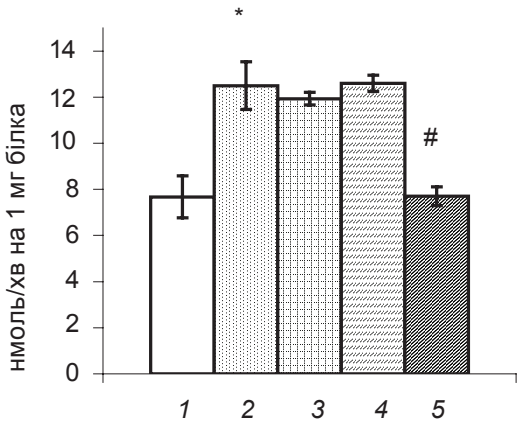

*Рис. 3. Вплив суміші NAE (3,3 мкг/мл) і хелеретрину хлориду (ХХ) на активність ПКС у гомогенатах кори надниркових залоз людини: 1 – контроль; 2 – NAE; 3 – NAE + 1 мкМ ХХ; 4 – NAE + 5 мкМ ХХ; 5 – NAE + 25 мкМ ХХ. * Вірогідний вплив NAE, # вірогідний вплив хлориду хелеретрину, $P < 0,05$; $n = 3$.*

функцію адренокортикальних клітин. Ймовірно, що NAE зв'язуються з канабіноїдними рецепторами, локалізованими в корі надниркових залоз [15, 27]. Активація канабіноїдних рецепторів призводить до зниження рівня cAMP за рахунок гальмування аденілатциклази і відповідно зменшення активності cAMP-залежної протеїнкінази А. Проте зниження активності cAMP-залежної ПК призвело би до зменшення продукції кортикостероїдів, а не до збільшення, як це показано в деяких роботах [4, 5].

Модулювання дії АКТГ це, певно, не єдина, але досить вагома ланка впливу NAE на функцію гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи. Показано, що NAE істотно знижують рівень АКТГ у крові щурів за умов іммобілізаційного стресу [6].

Виходячи з одержаних даних виявлені прямі стимулювальні ефекти N-ацилетаноламінів на стероїдогенез у корі надниркових залоз можна пояснити залученням ПКС до перенесення регуляторних сигналів NAE в адренокортикоцитах. Привертає увагу той факт, що для суміші NAE концентрація 3,3 мкг/мл виявляється найбільш біологічно активною в дослідах in vitro в корі надниркових залоз як людини (рис. 2), так і самок щурів [4]. Можливо, ПКС не є єдиною протеїнкіназою, що активується NAE в адренокортикоцитах. Для деяких типів інших клітин існують дані щодо активації анандамідом, 2-арахідоноїлгліцеролом і 9-тетрагідроканабінолом мітогенактивованих протеїнкіназ [16, 18] та фокальної адгезійної кінази (FAK) [14].

Інший механізм впливу NAE може припускати їхню взаємодію з іонними каналами і зміною транспортування іонів через цитоплазматичну мембрану. NAE мають властивість змінювати швидкість мембранного транспортування катіонів кальцію, натрію та рубідію. Відомо, що рубідій використовується в наукових дослідженнях як маркер або аналог іонів калію, який є одним із основних регуляторів синтезу альдостерону. Анандамід є селективним блокатором фонових калієвих каналів (TASK) [28], які забезпечують високу чутливість адренокортикоцитів до іона. Підвищення стероїдогенезу можна пояснити тим, що NAE блокує саме струм калію назовні і за присутності анандаміду концентрація калію у клітині зростає. Виявлено, що анандамід частково деполяризує клітинну мембрану, що також може бути причиною стимуляції стероїдогенезу. Цікаво, що ці ефекти анандаміду можуть здійснюватись без участі канабіноїдних рецепторів і G-білка.

Однак зараз важко ще зробити остаточний висновок відносно того, який з механізмів має основну роль у регуляції функції надниркових залоз N-ацилетаноламінами.

Автори висловлюють подяку к.б.н. В. М. Клімашевському (співробітнику відділу біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України) за газохроматографічний аналіз складу суміші NAE.

УЧАСТИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ, ПРОТЕИНКИНАЗ А И С В РЕАЛИЗАЦИИ ДЕЙСТВИЯ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ В АДРЕНОКОРТИКАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Е. И. Ковзун[1], Н. И. Левчук[1], Н. М. Гулая[2], А. С. Микоша[1]

[1]Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины, Киев;
[2]Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: endo@i.kiev.ua

Исследовали мессенджерные механизмы, обеспечивающие перенос регуляторных сигналов этаноламинов, N-ацилированных смесью жирных кислот (NAE), в коре надпочечников. Анализ механизмов реализации эффек-

тов NAE проводили в экспериментах in vitro на послеоперационной адренокортикальной ткани человека. Исследовано влияние смеси NAE на уровень cAMP и cGMP, активность протеинкиназ А и С в субклеточных фракциях адренокортикоцитов и гомогенатах условно нормальных тканей коры надпочечных желез. Показано, что под влиянием N-ацилированных производных этаноламинов наблюдается снижение уровня cAMP в адренокортикальных клетках. Уровень cGMP в этих условиях не изменяется. Выявлено повышение активности протеинкиназы С под влиянием смеси N-ацилэтаноламинов in vitro (3,3 мкг/мл) в микросомальной фракции и снижение активности cAMP-зависимой протеинкиназы А в цитозольной фракции адренокортикоцитов. Сделан вывод о том, что активация стероидогенеза в коре надпочечников N-ацилэтаноламинами in vitro может быть обусловлена активацией протеинкиназы С, а торможение – cAMP-зависимой мессенджерной системой.

Ключевые слова: N-ацилэтаноламины, адренокортикоциты, cAMP, cGMP, протеинкиназа А, протеинкиназа С.

PARTICIPATION OF CYCLIC NUCLEOTIDES, PROTEIN KINASES A AND C IN REALIZATION OF N-ACYLETHANOLAMINES ACTION IN HUMAN ADRENOCORTICAL CELLS

O. I. Kovzun[1], N. I. Levchuk[1], N. M. Gula[2], A. S. Mikosha[1]

[1]Komissarenko Institute of Endocrinology & Metabolism, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;
[2]Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: endo@i.kiev.ua

Summary

The messenger mechanisms mediating N-acylethanolamines (NAE) regulatory signals in the adrenal cortex were studied. An analysis of the mechanisms of realization of NAE effects in the post-operation human adrenal cortex was carried out in vitro. Influence of NAE mix on cAMP and cGMP level, protein kinase A and C activity in sub-cellular fraction of adrenocorticocytes and homogenates of conditionally normal adrenal cortex tissues was investigated. It was shown, that N-acylethanolamines treatment resulted in a decrease of cAMP level in adrenocortical cells. cGMP level is not changed in these conditions. The rise of protein kinase C activity was obtained in the membrane fraction after N-acylethanolamines in vitro treatment (3.3 μg/ml). Activity of cAMP-dependent protein kinase A significantly decreased in cytosol fraction of adrenocorticocytes. It was concluded, that steroid genesis activation is determined by protein kinase C activation, inhibition is determined by cAMP-dependent messenger system.

Key words: N-acylethanolamines, adrenocorticocytes, cAMP, cGMP, protein kinase A, protein kinase C.

1. *Epps D. E., Natarajan V., Schmid P. C., Schmid H. H. O.* // Biochim. Biophys. Acta. – 1980. – **618**, N 3. – P. 420–430.
2. *Schmid H. H., Schmid P. C., Natarajan V.* // Chem. Phys. Lipids. – 1996. – **80**, N 1–2. – P. 133–142.
3. *Patel S., Roelke C. T., Rademacher D. J. et al.* // Endocrinology. – 2004. – **145**, N 12. – P. 5431–5438.
4. *Mikosha A., Kovzun O., Zhukov A., Gulaya N.* // Med. Sci. Res. – 1998. – **26**. – P. 85–88.
5. *Гула Н. М., Мікоша О. С., Жуков О. Д., Челнакова І. С.* // Укр. біохім. журн. – 2000. – **72**, № 3. – С. 82–86.
6. *Сторожук Л. М., Жуков О. Д., Артамонов М. В. та ін.* // Ендокринологія. – 2005. – **10**, № 1. – С. 63–68.
7. *Жуков О. Д., Артамонов М. В., Клімашевський В. М. та ін.* // Укр. біохім. журн. – 2000. – **72**, № 2. – С. 24–27.
8. *Wenger T., Ledent C., Tramu G.* // Neuroendocrinology. – 2003. – **78**, N 6. – P. 294–300.
9. *Manzanares J., Corchero J., Fuentes J. A.* // Brain. Res. – 1999. – **839**, N 1. – P. 173–179.
10. *Roche M., Diamond M., Kelly J. P., Finn D. P.* // J. Neuroimmunol. – 2006. – **181**, N 1–2. – P. 57–67.
11. *Weidenfeld J., Feldman S., Mechoulam R.* // Neuroendocrinology. – 1994. – **59**, N 2. – P. 110–112.
12. *Zenor B. N., Weesner G. D., Malven P. V.* // Life Sci. – 1999. – **65**, N 2. – P. 125–133.
13. *Howlett A. C.* // Br. J. Pharmacol. – 2004. – **142**. – P. 1209–1218.
14. *Pagotto U., Marsicano G., Cota D. et al.* // Endocrine Rev. – 2006. – **27**, N 1. – P. 73–100.
15. *Galiegue S., Mary S., Marchand J. et al.* // Eur. J. Biochem. – 1995. – **232**. – P. 54–61.
16. *Davis M. I., Ronesi J., Lovinger D. M.* // J. Biol. Chem. – 2003. – **278**, N 49. – P. 48973–48980.

17. *Barg J., Fride E., Hanus L. et al.* // Eur. J. Pharmacol. – 1995. – **287**, N 2. – P. 145–152.
18. *Lepicier P., Bouchard J. F., Lagneux C., Lamontagne D.* // Br. J. Pharmacol. – 2003. – **139**, N 4. – P. 805–815.
19. *De Petrocellis L., Orlando P., Di Marzo V.* // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1995. – **36**, N 6. – P. 1127–1133.
20. *Berdyshev E., Schmid P., Krebsbach R. et al.* // Biochem. J. – 2001. – **360**. – P. 67–75.
21. *Балашов Ю. Г.* // Физиол. журн. СССР. – 1990. – **7**6, № 2. – С. 280–283.
22. *Ковзун О. І., Тронько М. Д., Микоша О. С.* // Укр. біохім. журн. – 2005. – **77**, № 6. – С. 97–100.
23. *Uchida N., Okamura S.-I., Kuwano H.* // Oncol. Reports. – 2000. – **7**. – P. 793–796.
24. *Kemp B. E., Graves D. J., Benjamini E., Krebs E. G.* // J. Biol. Chem. – 1977. – **252**. – P. 4888–4894.
25. *Maccarrone M., Bari M., Menichelli A. et al.* // Eur. J. Biochem. – 2001. – **268**. – P. 819–825.
26. *Gallo-Payet N., Payet M. D.* // Microsc. Res. Tech. 2003. – **61**, N 3. – P. 275–287.
27. *Lynn A. B., Herkenham M.* // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1994. – **268**, N 3. – P. 1612–1623.
28. *Bieger D., Parai K., Ford C. A., Tabrizchi R.* // Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. – 2006. – **373**, N 3. – P. 186–196.

Отримано 13.03.2007.