

## НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КОМЕНАТА КАЛЬЦИЯ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ И ГЛУТАМАТНОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НА МОДЕЛИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НЕЙРОНОВ МОЗЖЕЧКА И СПИНАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ

Л. В. Шурыгина<sup>1</sup>, Э. И. Злищева<sup>1</sup>, А. А. Кравцов<sup>1</sup>,  
Н. С. Скороход<sup>2</sup>, Н. О. Абрамова<sup>2</sup>

Изучено влияние нового фармакологического соединения кальциевой соли коленовой кислоты (СаК) на генерацию активных форм кислорода в модельной системе ЦФЛ (цитрат фосфатный буфер с добавлением люминола), на токсичность глутамата в диссоциированных культурах нейронов мозжечка крыс, а также его влияние на ростовые процессы культивируемых нейронов спинальных ганглиев эмбрионов кур в условиях окислительного стресса в сравнении с коленовой кислотой (КК). Установлено, что СаК повышает устойчивость культивируемых нейронов мозжечка к глутаматной цитотоксичности, проявляет выраженный нейротрофический эффект — защищает нейроны спинальных ганглиев эмбрионов кур от окислительного воздействия перекиси водорода, значительно снижает содержание свободных радикалов в модельной системе ЦФЛ (на 64,6 %,  $p < 0,001$ ). Антиокислительные свойства СаК практически не отличаются от КК, в тоже время максимальный нейропротекторный эффект СаК проявляется в более низких (1 и 10 мкМ), чем КК (1000 мкМ) концентрациях, а нейротрофическое действие, в отличие от КК, в более широком диапазоне концентраций: СаК — 0,01 и 0,001 мМ, КК — 0,01 мМ.

**Ключевые слова:** коменат кальция; нейроны мозжечка крыс; спинальные ганглии эмбрионов кур; глутаматная эксайтотоксичность; нейротрофические факторы; окислительный стресс.

### ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс рассматривается как один из наиболее значимых факторов патогенеза многих заболеваний, вызываемых гипоксией/ишемией мозга, в том числе таких, как болезнь Альцгеймера, амиотрофический боковой склероз, болезнь Паркинсона [2, 3, 16]. Основные механизмы нейронального повреждения при ишемии/гипоксии включают истощение энергетических ресурсов в условиях ацидоза ткани мозга, нарушение ионного гомеостаза и гиперпродукцию активных форм кислорода (АФК). Последние индуцируют развитие окислительного стресса, который характеризуется повышенным образованием свободных радикалов и снижением активности антиоксидантной системы [16]. Важнейшим фактором патогенеза является избыточное накопление возбуждающих аминокислот [1]. Длительное и интенсивное действие глутамата (Глу) или его аналогов ведет к стойкой деполяризации клеточной мембраны нейронов, сопровождающейся изменением проницаемости мембраны, нарушением внутриклеточного ионного баланса и энергозависимых систем, способных в норме восстановить ионный гомеостаз. Токсическое действие глу-

тамата связано с перегрузкой нейронов кальцием, способствующей активации кальций-зависимых липолитических ферментов и избыточному образованию свободных радикалов [7]. Образование свободных радикалов и пероксинитритов неизменно ведет к некрозу и апоптозу нейронов [2, 6, 14]. Основной целью нейропротекции при ишемии мозга является предотвращение распространения необратимого ишемического повреждения. Нейропротекция представляет собой сумму всех средств воздействия, направленных на защиту нейронов от повреждающих факторов [13]. Это, прежде всего, воздействие на эксайтотоксические механизмы повреждения нервной ткани — блокада глутаматных рецепторов, воздействие на ионный гомеостаз, использование антагонистов кальциевых каналов, агонистов  $K^+$ -каналов, нейротрофических факторов, применение антиоксидантов и подавление активных форм кислорода [6]. В этой связи разработка и внедрение в клиническую практику препаратов с антиоксидантной и цитопротекторной активностью с выраженными нейротрофическими свойствами является актуальной проблемой.

Целью работы являлось изучение влияния нового фармакологического соединения, кальциевой соли коленовой кислоты, на генерацию АФК в модельной системе, на токсичность глутамата в диссоциированных культурах нейронов мозжечка крыс, а также его

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», Россия, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149.

<sup>2</sup> ООО «Бализ Фарм», Россия, 350910, Краснодар, ул. Мира, 4/1.

влияние на рост нейронов спинальных ганглиев кур в условиях окислительного стресса.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на модельной системе ЦФЛ, а также культурах зернистых клеток мозжечка крыс и спинальных ганглиев кур. При работе соблюдали правила лабораторной практики (Приказ МЗ и СР РФ от 23.08.2010 № 708н) и ГОСТ Р 53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики”.

Кальциевую соль коленовой кислоты (CaK) синтезировали в отделе биологически активных веществ им. профессора А. Я. Шурыгина ФГБОУ ВО “КубГУ”. CaK — кристаллический порошок желтого цвета, растворим в воде, молекулярная масса 350,26 [11]. Нейропротекторные свойства CaK на фоне токсического действия глутамата в культурах нейронов мозжечка крыс и ростовые процессы нейронов спинальных ганглиев кур в условиях окислительного стресса исследовали в сравнении с коленовой кислотой (КК). КК (5-гидрокси-γ-пирон-2-карбоновая кислота) — основной физиологически активный компонент высокоэффективного лекарственного препарата Бализ-2, имеет широкий диапазон биологического действия. Обладает антиоксидантным эффектом, седативным действием, антиабстинентным, анксиолитическим и антидепрессантным свойствами. Оказывает выраженное ростстимулирующее действие на культивируемые нейроны верхнего шейного краниального ганглия. КК — белый кристаллический порошок, молекулярная масса 156,09, малорастворим в воде и спирте [5, 9, 11].

Действие CaK на генерацию АФК в модельной системе изучали в среде ЦФЛ (цитрат фосфатный буфер с добавлением люминола). В данной модели окисление ионов железа в присутствии ортофосфата и цитрата сопровождается образованием АФК и при этом возникает хемилюминесценция (ХЛ), избирательно усиливаемая люминолом, которая подавляется в присутствии антиоксидантов. Регистрацию ХЛ осуществляли прибором SmartLum 5773 в течение 5 мин. Антиокислительную активность CaK оценивали по угнетению ХЛ модельной системы при добавлении

водных растворов препарата в сравнении с раствором КК. Конечная концентрация веществ в кювете составляла 0,1 и 0,01 мг/мл. Эмпирически установлено, что в этих концентрациях исследуемые препараты проявляют наиболее выраженную антиокислительную активность. Хемилюминесценцию свободных радикалов модельной системы ЦФЛ (контроль) принимали за 100 %. Результаты экспериментов определяли по интенсивности хемилюминесценции (в у. е.) и рассчитывали в процентах к контролю [8]. Достоверность отличий оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Культуры зернистых клеток мозжечка получали из мозга 7–9-дневных крысят линии Вистар методом ферментно-механической диссоциации [10]. Плотность клеток в культурах составляла  $3 \times 10^3$  клеток/мм<sup>2</sup>. После 7 дней культивирования их подвергали действию Глу и исследуемых веществ.

Культуры обрабатывали 100 мкМ Глу в течение 10 мин в сбалансированном солевом растворе (ССР) следующего состава (в мМ): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,35; CaCl<sub>2</sub> – 2,3; NaCl — 136,7; KCl — 5,6; NaHCO<sub>3</sub> – 12; глюкоза — 11 (pH 7,5). Через 10 мин культуры отмывали от Глу, сменив ССР с Глу на ССР. Затем культуры помещали в исходную культуральную среду и в часть культур добавляли CaK или КК. Контролем служили культуры, помещенные на 10 мин в ССР. Затем культуры помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор (5 % CO<sub>2</sub>, (36,5 ± 0,5)°С) на 4,5–5 ч. После инкубации культуры фиксировали ФУСом (смесь формалина, уксусной кислоты и спирта в пропорциях 2:1:7), окрашивали трипановым синим и учитывали число живых и погибших нейронов с помощью инвертированного микроскопа Invertoscopes ID 03. Исследовано влияние CaK в концентрациях от 1000 до 0,1 мкМ и КК в концентрациях 1000–10 мкМ.

Спинальные ганглии эмбрионов кур культивировали по общепринятым методикам [4]. Для культивирования нейронов использовали питательную среду следующего состава: сыворотка эмбриональная телячья — 30 %; среда Игла (DMEM) — 55 %; раствор Хэнкса — 12 %; раствор глюкозы (40 %) — 2 %; раствор L-глутамин (0,2 М) — 1 %. Окислительный стресс

Таблица 1. Влияние CaK на ростовые процессы спинальных ганглиев эмбрионов цыплят ( $M \pm m$ )

Показатель нейритного роста	Группа культур				
	контроль <i>n</i> = 61	перекись водорода <i>n</i> = 60	перекись водорода, CaK, <i>n</i> = 124		
			0,1 мМ	0,01 мМ	0,001 мМ
МВЗР	1185,5 ± 42,2	882,8 ± 31,9**	982,1 ± 66,5	1160,3 ± 73,9###	1033,7 ± 53,8#
ОВЗР	3,3 ± 0,1	3,1 ± 0,1*	3,1 ± 0,1	3,4 ± 0,1##	3,1 ± 0,1
КНП	34,1 ± 1,2	22,9 ± 1,5**	28,5 ± 3,2	33,1 ± 2,6###	30,7 ± 2,5##
ППН	2,8 ± 0,1	2,17 ± 0,08**	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,1###	2,6 ± 0,1##
ИЗР	3353,2 ± 190,9	2005,8 ± 126,0**	2746,7 ± 387,9	3375,4 ± 344,0###	2760,4 ± 220,0##

Примечание: *n* — количество культивируемых спинальных ганглиев.

\*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,001$  — в сравнении с группой “контроль”;

#  $p < 0,05$ ; ##  $p < 0,01$ ; ###  $p < 0,001$  — в сравнении с группой “перекись водорода”.

получали через 24 ч от начала культивирования спинальных ганглиев добавлением в питательную среду перекиси водорода в концентрации 10 мМ на 30 мин. Через 30 мин питательную среду с перекисью водорода удаляли, культуры помещали в свежую питательную среду и в опытные культуры добавляли раствор СаК и КК в конечной концентрации в культуре 0,1, 0,01, 0,001 мМ. Количественный учет показателей роста нейритов спинальных ганглиев эмбрионов кур производили через 48 ч от начала культивирования на инвертированном микроскопе Invertoscopes ID 03 путем прижизненной микроскопии в фазовом контрасте. Оценивали (в относительных единицах) следующие показатели:

максимальная величина зоны роста (МВЗР), равная расстоянию от края эксплантата до кончика самого длинного нейрита;

относительная величина зоны роста (ОВЗР), равная отношению МВЗР к диаметру эксплантата;

количество нейритов в пучке (КНП), которое определялось подсчитыванием количества отростков на отрезке 200 мкм на расстоянии 250 мкм от края ганглия;

плотность пучка нейритов (ППН), определяемая по числу нейритов в зоне роста на отрезке 200 мкм на расстоянии 250 мкм от края эксплантата и градуированная по шкале: менее 10 пучков — 1; 10 – 30 – 2; 30 – 50 – 3; более 50 – 4;

интенсивность зоны роста (ИЗР), определяемая как произведение МВЗР на ППН.

Статистический анализ результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента в Statistica 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выживаемость нейронов мозжечка после воздействия глутамата значительно (на 60,3 %,  $p < 0,001$ ) снижается (рисунок). Добавление СаК в культуры, обработанные Глу, приводит к статистически значимому снижению гибели нейронов во всех группах культур (рисунок, а). При этом наиболее высокую (в среднем на 30 %) в сравнении с группой Глу и практически одинаковую выживаемость нейронов отмечали при применении СаК в концентрациях 1 и 10 мкМ.

Повышение устойчивости нейронов мозжечка к эксцитотоксическому действию Глу отмечали и при применении КК в концентрациях 1000 – 10 мкМ (рисунок, б). Максимальная эффективность КК отмечалась в концентрации 1000 мкМ, число выживших нейронов практически не отличалось от числа таковых при применении СаК в концентрациях 1 – 10 мкМ. Достоверно более высокая выживаемость нейронов в сравнении с группой Глу отмечалась и в культурах “Глу, КК 100 мкМ” и “Глу, КК 10 мкМ”. Однако действие КК в этих концентрациях было слабее, чем СаК. При этом выживаемость нейронов при действии КК в концентрации 10 мкМ была достоверно ниже, чем при применении СаК в этой же концентрации.

Максимальный нейропротекторный эффект в условиях глутаматной цитотоксичности КК проявляется в значительно более высокой концентрации в сравнении с СаК. Установлено также, что СаК и КК, независимо от их концентрации (в исследованном диапазоне), влияния на культуру интактных зернистых клеток мозжечка не оказывают, число выживших нейронов остается на уровне контроля (в среднем 94,6 %).

Таким образом, установлено, что применение кальциевой соли КК и КК на фоне глутаматной эксцитотоксичности способствует значительному увеличению выживаемости нейронов мозжечка в культуре. При этом максимальный протекторный эффект в культурах достигается при добавлении кальциевой соли КК в существенно более низких концентрациях (1 – 10 мкМ) в сравнении с КК (1000 мкМ).

Анализ нейритного роста спинальных ганглиев эмбрионов кур показал, что окислительный стресс, вызванный добавлением в культуру перекиси водорода, значительно угнетает ростовые процессы нейронов. Применение СаК (табл. 1) на фоне окислительного стресса в концентрациях 0,01 и 0,001 мМ способствует восстановлению нейритного роста спинальных ганглиев в культуре. При этом все показатели ростовых процессов (МВЗР, КНП, ППН, ОВЗР, ИЗР) значительно превышают таковые в группе культур, обработанных перекисью водорода,  $p < 0,001$ . Наиболее выраженный нейротрофический эффект СаК в условиях

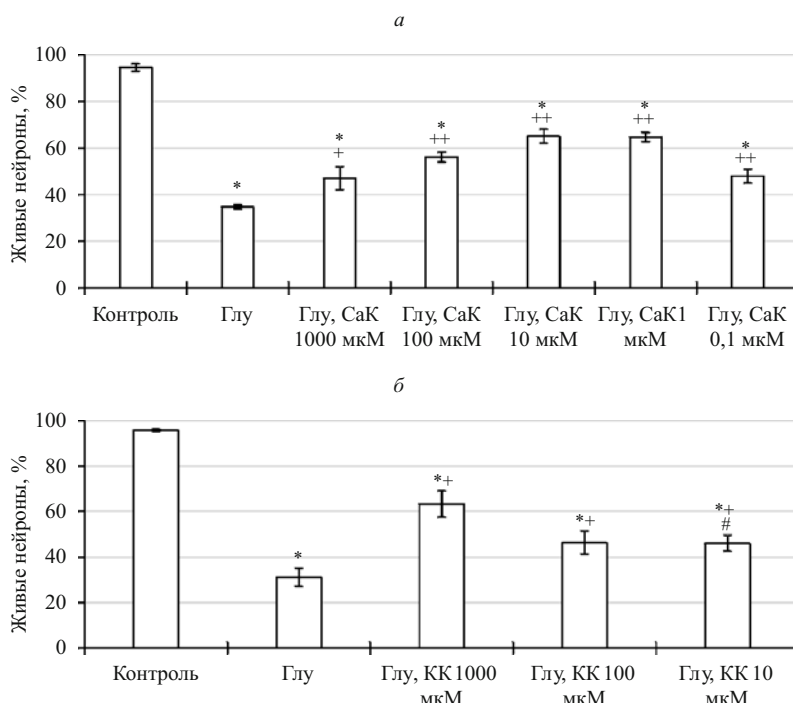
Таблица 2. Влияние КК на ростовые процессы спинальных ганглиев эмбрионов цыплят ( $M \pm m$ )

Показатель нейритного роста	Группа культур				
	контроль, $n = 159$	перекись водорода, $n = 167$	перекись водорода, КК, $n = 135$		
			0,1 мМ	0,01 мМ	0,001 мМ
МВЗР	1195,0 ± 52,8	959,8 ± 35,4**	1122,6 ± 90,7	1156,5 ± 68,3 <sup>#</sup>	969,8 ± 57,0
ОВЗР	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,0*	3,18 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,04 ± 0,1
КНП	24,7 ± 1,5	17,7 ± 1,2**	22,05 ± 3,1	28,6 ± 2,6 <sup>###</sup>	21,7 ± 2,2
ППН	2,3 ± 0,1	1,9 ± 0,1*	2,1 ± 0,2	2,5 ± 0,2 <sup>##</sup>	2,1 ± 0,1
ИЗР	2902,6 ± 204,9	1960,1 ± 129,4**	2613,5 ± 384,9	3063,6 ± 309,6 <sup>##</sup>	2209,0 ± 226,6

Примечание:  $n$  — количество культивируемых спинальных ганглиев.

\*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,001$  — в сравнении с группой “контроль”;

<sup>#</sup>  $p < 0,05$ ; <sup>##</sup>  $p < 0,01$ ; <sup>###</sup>  $p < 0,001$  — в сравнении с группой “перекись водорода”.



Влияние СаК (а) и КК (б) на цитотоксический эффект Глу в культуре нейронов мозжечка крыс. Различия достоверны в сравнении: с контролем \*  $p < 0,05$ ; с глутаматом +  $p < 0,05$ , ++  $p < 0,001$ ; с СаК 10 мкМ #  $p < 0,05$ .

окислительного стресса отмечается при применении его в концентрации 0,01 мМ,  $p < 0,001$ . В этой группе культур показатели нейритного роста практически не отличаются от показателей контрольной группы. Менее высокий, но статистически значимый, нейротрофический эффект оказал СаК в концентрации 0,001 мМ,  $p < 0,001$ . Тенденцию к повышению интенсивности ростовых процессов в сравнении с культурой, обработанной перекисью водорода, отмечали и при применении СаК в концентрации 0,1 мМ.

Исследование нейротрофических свойств КК в условиях окислительного стресса (табл. 2) показало, что КК, как и СаК, способствует восстановлению ростовых процессов в культуре спинальных ганглиев, обработанных перекисью водорода. При этом применение КК в концентрации 0,01 мМ способствует восстановлению нейритного роста до контрольного уровня, а по таким показателям как КНП и ППН даже несколько (на 15,7 и 10 % соответственно) превосходит его. При внесении в культуру КК в концентрации 0,1 мМ отмечается лишь тенденция к повышению показателей ростовых процессов МВЗР, КНП, ППН, ИЗР. Не влияет на нейритный рост в условиях окислительного стресса КК в концентрации 0,001 мМ.

Таким образом, нейротрофическое действие КК проявляется в более узком диапазоне концентраций в сравнении с СаК.

При исследовании антиокислительных свойств СаК установлено, что это вещество значительно снижает содержание свободных радикалов в модельной системе ЦФЛ (табл. 3). При этом уровень снижения свобод-

ных радикалов СаК практически не отличается от уровня подавления свободных радикалов КК. Антиокислительные свойства СаК, также как и КК, зависят от концентрации вещества. С увеличением его концентрации в испытуемом растворе с 0,01 до 0,1 мг/мл уровень подавления свободных радикалов повышается более чем на 30 %. Таким образом, кальциевая соль КК обладает выраженным антиоксидантным действием, при этом её антиокислительные свойства практически не отличаются от свойств КК.

В результате сравнительного анализа нейропротекторных свойств СаК и КК установлено, что СаК обладает выраженным нейропротекторным действием в условиях глутаматной эксайтотоксичности, проявляет высокий статистически значимый нейротрофический эффект в культуре спинальных ганглиев кур в условиях окислительного стресса, снижает содержание свободных радикалов в модельной системе ЦФЛ. При этом, если антиокислительные свойства СаК практи-

Таблица 3. Уровень снижения свободных радикалов (% к контролю) в модельной системе ЦФЛ в присутствии КК и её кальциевой соли СаК ( $M \pm m$ )

Препарат	Концентрация	
	0,01, мг/мл	0,1, мг/мл
СаК, $n = 14$	29,4 ± 1,1*	64,6 ± 1,3**,**
КК, $n = 11$	33,3 ± 1,4*	69,4 ± 1,2**,**

Примечание:  $n$  — число опытов; \*  $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \*\*  $p < 0,001$  в сравнении с 0,01 мг/кг.



чески не отличаются от таковых КК, то выраженное нейропротекторное действие в условиях глутаматной цитотоксичности и нейротрофический эффект нового соединения в условиях окислительного стресса проявляются в более широком, чем у КК диапазоне концентраций.

Токсическое действие глутамата связано с перегрузкой нейронов кальцием, способствующей активации кальций-зависимых липолитических ферментов и избыточному образованию свободных радикалов. Образование свободных радикалов вызывает деструкцию мембран клеток и ведет к гибели нейронов [5, 6]. Известно, что многие вещества с нейротрофическим действием способствуют выживанию нейронов в культуре и предупреждают их дегенерацию при токсической обработке глутаматом [12, 15]. Исходя из литературных данных и результатов проведенных исследований, можно предположить, что значимыми механизмами нейропротекторного действия СаК, способствующими защите нейронов от глутаматной эксайтотоксичности и повышению показателей нейритного роста в условиях окислительного стресса, являются его антиоксидантное и нейротрофическое действие. Полагаем, что Полученные данные позволяют предположить наличие перспективности СаК как нейропротекторного фармакологического средства и указывают на целесообразность проведения дальнейших исследований механизмов его действия.

## ВЫВОДЫ

1. Кальциевая соль КК обладает выраженным антиокислительным свойством. Так, в модельной системе ЦФЛ в концентрации 0,1 мг/мл она снижает уровень свободных радикалов на  $(64,6 \pm 1,3) \%$ ,  $p < 0,001$ . При этом её антиокислительное действие практически не отличается от КК, уровень подавления радикалов которой составляет  $(69,4 \pm 1,2)$ ,  $p < 0,001$ .

2. СаК значительно повышает устойчивость нейронов мозжечка крыс к глутаматной эксайтотоксично-

сти, проявляет выраженный нейротрофический эффект в условиях окислительного стресса. Максимальный нейропротекторный эффект СаК проявляется в более низких (1 и 10 мкМ), чем КК (1000 мкМ) концентрациях, а нейротрофическое действие, в отличие от КК, в более широком диапазоне концентраций: СаК – 0,01 и 0,001 мМ, КК – 0,01 мМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 16-44-230337 p\_a.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. П. Большаков, *Нейрохимия*, **25**(3), 157 – 169 (2008).
2. О. А. Водопьянова, И. Я. Моисеева, О. П. Родина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(6), 27 – 29 (2014).
3. Е. Е. Дубинина, Л. В. Щедрина, Н. Г. Незнанов и др., *Биомед. химия*, **61**(1), 57 – 69 (2015).
4. А. А. Кравцов, А. Я. Шурыгин, Л. В. Шурыгина и др., *Нейрохимия*, **26**(3), 225 – 231 (2009).
5. Т. И. Панова, *Теор. эксперим. мед.*, № 1, 28 – 33 (2005).
6. З. А. Суслина, М. Ю. Максимова, *Нервные болезни*, № 3, 4 – 7 (2004).
7. И. Н. Тюренков, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **159**(3), 344 – 347 (2015).
8. Р. Р. Фархутдинов, В. А. Лиховских, *Хемиллюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине*, БГМИ, Уфа (1995).
9. А. Я. Шурыгин, Л. В. Шурыгина, Н. Н. Лобова, Патент РФ RU 2459623, *Бюл. изобрет.*, № 24 (2012).
10. Л. В. Шурыгина, А. А. Кравцов, Э. И. Злищева и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **158**(7), 56 – 59 (2014).
11. Л. В. Шурыгина, Э. И. Злищева, А. А. Кравцов и др., Патент РФ RU 2561045, *Бюл. изобрет.*, № 23 (2015).
12. I. Husson, C.-M. Rangan, V. Lelievre, et al., *Cerebral Cortex March*, **15**, 250 – 261 (2005).
13. D. F. Muresanu, *J. Neurol. Sci.*, **257**, 38 – 43 (2007).
14. Y. Nishizawa, *Life Sci.*, **69**, 369 – 381 (2001).
15. R. A. Segal, H. Takahashi, R. D. McKay, *Neuron*, **9**(6) 1041 – 1052. (1992).
16. B. Thomas, M. F. Beal, *Human Mol. Genetics*, **16**(2), R183 – R194 (2007).

Поступила 12.02.17

## NEUROPROTECTIVE EFFECT OF CALCIUM COMENATE UNDER OXIDATIVE STRESS AND GLUTAMATE CYTOTOXICITY ON THE MODEL OF CULTURED CEREBELLAR NEURONS AND SPINAL GANGLIA NEURONS

L. V. Shurygina<sup>1\*</sup>, E. I. Zlishcheva<sup>1</sup>, A. A. Kravtsov<sup>1</sup>, N. S. Skorokhod<sup>2</sup>, and N. O. Abramova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kuban State University, ul. Stavropolskaya 149, Krasnodar, 350040 Russia

<sup>2</sup> Baliz Farm Ltd., ul. Mira 4/1, Krasnodar, 350910 Russia

\* e-mail: balizfarm@mail.ru

The influence of a new pharmacological agent, calcium salt of comenic acid (calcium comenate, CaKm), on the generation of reactive oxygen species (ROS) in the model system of citrate-phosphate buffer with luminol addition (CPhL), the toxicity of glutamate in dissociated cultures of rat cerebellar neurons, and its impact on the growth of neurons of chicken spinal ganglia under conditions of oxidative stress have been studied in comparison to comenic acid (KA). It was found that CaKm increased the resistance of cultured neurons to glutamate cytotoxicity, exhibited pronounced neurotrophic effect by protecting the neurons of spinal ganglia of chick embryos from oxidative effects of hydrogen peroxide. CaKm significantly reduced the amount of free radicals in the model CPhL system (64.6%,  $p < 0.001$ ). The antioxidant properties of CaKm did not differ from those of KA. At the same time, the maximum neuroprotective effect of CaKm was observed at lower concentrations (1 and 10  $\mu$ M) as compared to KA (1000  $\mu$ M). The neurotrophic action of CaKm was manifested in a wider effective concentration range (0.01 – 0.001 mM) as compared to that of KA (0.01 mM).

**Keywords:** calcium comenate; rat cerebellum neurons; chicken spinal ganglia; glutamate excitotoxicity; neurotrophic factors; oxidative stress.