

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУКИ «ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-  
БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

*На правах рукописи*

КОСТРОВА

Таисия Александровна

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В  
ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ  
НЕЙРОТОКСИКАНТАМИ И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ  
(экспериментальное исследование)

14.03.04 – токсикология (медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, доцент  
Кашуро Вадим Анатольевич

Санкт-Петербург, 2019

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	14
1.1 Токсикологическая характеристика и механизм действия исследуемых нейротоксикантов.....	18
1.1.1 Токсикологическая характеристика и механизм действия барбитуратов .....	19
1.1.2 Токсикологическая характеристика и механизм действия карбаматов ..	24
1.2 Последствия отравления нейротоксикантами .....	29
1.3 Изменение высшей нервной деятельности в отдаленном периоде после острых отравлений.....	31
1.4 Роль антиоксидантной системы в инактивации процессов свободно-радикального окисления .....	33
1.5 Биомаркеры повреждения нейронов .....	35
1.5.1 Лактатдегидрогеназа и креатинкиназа.....	36
1.5.2 Специфические показатели повреждения ткани головного мозга – нейротрофические факторы .....	38
1.6 Профилактика и лечение отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами .....	43
1.7 Заключение .....	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	47
2.1 Выбор и содержание животных .....	47
2.2 Моделирование последствий острого отравления нейротоксикантами и их фармакологическая коррекция .....	48
2.3 Препараты фармакологической коррекции .....	50
2.4 Клинические проявления острого отравления исследуемыми нейротоксикантами .....	53
2.5 Получение биологического материала и методики исследования .....	54
2.4 Статистическая обработка результатов .....	59

ГЛАВА 3. КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ НЕЙРОТОКСИКАНТАМИ .....	60
3.1 Изучение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	62
3.2 Изучение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	65
3.3 Изучение активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	68
3.4 Изучение изменений концентрации биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	70
3.5 Исследование поведенческой активности и когнитивной функции лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	71
ГЛАВА 4. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ НЕЙРОТОКСИКАНТАМИ .....	77
4.1 Фармакологическая коррекция изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	78
4.2 Фармакологическая коррекция изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	90

4.3 Фармакологическая коррекция изменений активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	99
4.4 Фармакологическая коррекция изменений концентрации биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	105
4.5 Фармакологическая коррекция изменений поведенческой активности и когнитивной функции лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом .....	110
ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	147
ВЫВОДЫ .....	152
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	154
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	155
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	156
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	158

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Острые отравления в Российской Федерации остаются серьезной медико-социальной проблемой: регулярная встречаемость, внушительный уровень летальных исходов, инвалидизация (Остапенко Ю.Н. и др., 2014). В картине острых отравлений первое место занимают интоксикации веществами, вызывающими первичное поражение головного мозга. Доля отравлений нейротоксикантами достигает 65%, при этом более трети случаев – это интоксикации тяжелой и крайне тяжелой степени (Ливанов Г.А. и др., 2007; Васильев С.А. и др., 2013).

Анализ данных литературы показал, что при достаточной изученности начальных этапов патогенеза и клинического течения острых отравлений нейротоксикантами (Ливанов Г.А. и др., 2008; Лоладзе А.Т. и др., 2016; Ливанов Г.А. и др., 2018) недостаточно внимания уделяется вопросу отдаленных последствий интоксикации веществами нейротоксического действия, отсутствуют репрезентативные данные статистики об отсроченных нарушениях функций нервной системы. Например, при широко распространенных бытовых отравлениях поражения центральной нервной системы (ЦНС), возникающие в отдаленном периоде после острой интоксикации, обычно с нею не связываются (Горский А.А. и др., 2014). Отдаленные последствия отравления веществами депримирующего действия могут возникать при неправильной дозировке препаратов внутривенного наркоза (пропофол, тиопентал, кетамин) вследствие их медленного выведения из организма (Martí Н.Н., 2004). Многообразные проявления отсроченного нейротропного действия характерны, в частности, для острых отравлений фосфорорганическими веществами, а также карбаматами, производными карбаминовой кислоты, вызывающими судорожный синдром (Зобнин Ю.В., 2008).

Среди отдаленных проявлений острых отравлений химическими веществами неуклонно растет число неврологических расстройств по типу

астенического синдрома, энцефалопатии, других органических и функциональных патологий нервной системы. Однако доступные в литературе описания клинических вариантов астенического синдрома и синдрома органического поражения головного мозга можно считать лишь феноменологической оценкой, не позволяющей эффективно планировать направления фармакологической коррекции данных нарушений (Остапенко Ю.Н., 2002; Шилов В.В. и др., 2011).

Известно, что патогенез острых химических токсикозов включает активацию свободно-радикальных процессов, в частности перекисного окисления липидов (ПОЛ), и генерацию активных форм кислорода (АФК) как проявлениями окислительного стресса (ОС) (Глушков С.И. и др., 2002; Белова М.В., 2015). При этом важным механизмом повреждения клеток ЦНС является развитие биоэнергетической гипоксии (Лукьянова Л.Д., 1997; Кашуро В.А. и др., 2010), приводящей к нарушению функции митохондрий, дисбалансу энергетических путей и разрушению клеточных мембран через прямое воздействие на биоэнергетический аппарат клетки с дальнейшим нарушением его функций (Лукьянова Л.Д. 1997; Новиков В.Е. и др., 2002; Батоцыренова Е.Г. и др., 2018). Однако сведения о роли антиоксидантной системы (АОС), в частности системы глутатиона, которая принимает участие во второй фазе биотрансформации – конъюгации с токсическим агентом и его метаболитами, а также является одним из главных звеньев антиоксидантной защиты (Adams J. D., 1984), в патогенезе отдаленных последствий тяжелых отравлений нейротоксикантами носят фрагментарный характер.

Несмотря на информативность биохимических исследований антиоксидантного статуса организма на фоне действия стрессорных факторов, полученные результаты характеризуют функциональное состояние организма в целом, нежели дают оценку повреждения конкретных систем. Степень повреждения нервной ткани, наряду с показателями АОС и ПОЛ, определяются балансом специфических пептидных маркеров нейротоксичности и нейропротекции, таких как нейронспецифическая енолаза (NSE), белок S-100,

основной белок миелина (МВР), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP), мелатонин (Григорьев Е.В. и др., 2010). Кроме того, интегральными показателями деятельности ЦНС в отдаленном периоде после острых отравлений нейротоксикантами служат изменения поведенческих, когнитивных функций, которые оцениваются с помощью тестов «открытое поле» и «условная реакция пассивного избегания».

### **Цель работы диссертационной работы**

Выявить роль биохимических и поведенческих показателей в патогенезе отдаленных последствий острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом, и их фармакологическая коррекция.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать изменение содержания биохимических маркеров гомеостаза (АОС, ПОЛ и активность ферментов энергетического обмена) в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга через 1 и 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

2. Выявить особенности изменения концентрации нейротрофических маркеров в сыворотке крови через 1 и 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

3. Изучить поведенческие и когнитивные функции лабораторных крыс-самцов в тестах «Открытое поле» и «Условная реакция пассивного избегания» через 1 и 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

4. Изучить влияние биологически активных соединений на исследованные биохимические показатели в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга, поведенческие и когнитивные функции лабораторных животных через 1 и 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

## Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование отдаленных последствий острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом, характеризующихся сходными изменениями биохимических показателей, поведенческих и когнитивных функций. Через 1-3 месяца после интоксикации установлено нарушение перекисно-антиоксидантного баланса, заключающееся в достоверном снижении концентрации восстановленного глутатиона (ВГ), активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД), глутатион-S-трансферазы (ГТ) и интенсификации процессов перекисного окисления липидов (достоверное увеличение концентрации диеновых конъюгат (ДК)). Впервые показано достоверное увеличение активности ферментов энергетического обмена (креатинкиназы (КК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ)) в тканях головного мозга как механизма долгосрочной адаптивной реакции на воздействие нейротоксикантами. Выявлено нарушение баланса нейротрофических факторов головного мозга, сопряженное с нарушением двигательных, поведенческих и когнитивных функций лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления нейротоксикантами.

Обнаружено, что нарушение системы глутатиона и активация перекисного окисления липидов, нарушение баланса нейротрофических факторов, как результат отсроченного действия нейротоксикантов, эффективно корректировались применением биологически активных соединений, обладающих антиоксидантными и нейропротекторными свойствами: цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты, сукциноильного производного мелатонина и белок теплового шока 70. Их применение приводило к нормализации двигательной и исследовательской активности животных, улучшения кратковременной и долговременной памяти через 1 и 3 месяца после острого отравления нейротоксикантами.



## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты расширяют представления об основных патогенетических механизмах отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами, как то: нарушение гомеостаза антиоксидантной системы и активация перекисного окисления липидов, дисбаланс нейротрофических факторов, а также их проявлениях – угнетении поведенческих и когнитивных функций. Выявленные информативные биохимические показатели крови (концентрация восстановленного глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов, концентрация малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгат, концентрация нейротрофических факторов NSE и MBP) могут использоваться для клинико-лабораторной диагностики поражений ЦНС в отдаленном периоде после острых отравлений веществами нейротоксического действия. Экспериментально обоснована возможность оценки эффективности перспективных препаратов фармакологической коррекции отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами по показателям АОС и ПОЛ (концентрация восстановленного глутатиона, активность глутатион-S-трансферазы, концентрация диеновых конъюгат и малонового диальдегида), концентрации нейротрофических факторов (NSE и MBP).

## **Методология и методы исследования**

Методология исследования состояла в моделировании отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами (тиопентал натрия и фенилкарбамат) в лонгитюдном эксперименте на лабораторных животных с определением в динамике маркерных биохимических показателей. Выявленные статистически достоверные сдвиги в поведении животных и особенностях протекания метаболических процессов были использованы для обоснования направлений планируемой фармакологической коррекции. Набор использованных методов исследования соответствует современному методическому уровню экспериментальных и лабораторных исследований. Примененные методы

статистической обработки данных отвечают поставленной цели и задачам исследования. Исследования выполнены с соблюдением всех правил доказательной медицины.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Дисбаланс АОС, увеличение интенсивности ПОЛ, нарушение гомеостаза нейротрофических факторов являются основными патогенетическими звеньями отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами. Данные изменения неспецифичны и характеризуются сходной динамикой через 1 и 3 месяца после интоксикации веществами депримирующего и судорожного действия.

2. В результате тяжелого однократного отравления нейротоксикантами происходит нарушение высших интегративных функций ЦНС, которое проявляется в отдаленном периоде (через 1 и 3 месяца после интоксикации) в развитии тревоги, снижении эмоционального статуса, замедлении процессов обучения и запоминания, нарушении процессов долговременной и кратковременной консолидации памятного следа.

3. В качестве перспективных средств фармакологической коррекции отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами могут рассматриваться препараты: цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты (KZ-03), сукциноильное производное мелатонина (KSE-02), белок теплового шока БТШ 70, которые устраняют дисбаланс АОС, снижают интенсивность ПОЛ, нормализуют баланс нейротрофических факторов и предотвращают нарушение поведенческих и когнитивных функций.

### **Внедрение результатов исследования**

Полученные данные диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего

образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации и используются в лекционных материалах и семинарских занятиях дисциплины «Токсикология», также в лекционных материалах для адъюнктов (аспирантов) по специальностям «Токсикология».

### **Степень достоверности**

Степень достоверности результатов определяется достаточным и репрезентативным объёмом выборки, рандомизацией и формированием исследуемых групп и контрольных групп сравнения, надлежащими токсикологическими, поведенческими моделями, использованием современных методов оценки клинических и лабораторных показателей острого отравления, достаточными сроками наблюдения. Методы математической обработки результатов адекватны поставленным задачам.

### **Апробация результатов**

Результаты работы были представлены и обсуждены на V съезде физиологов СНГ, V съезде биохимиков России, конференции ADFLIM (Сочи, 2016), Всероссийской конференции с международным участием «Окислительный стресс в психиатрии и неврологии» (Санкт-Петербург, 2016), IV Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2016), VI Международном симпозиуме «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии» (Санкт-Петербург, 2017), VII Балтийском форуме «Актуальные проблемы современной медицины» (Санкт-Петербург, 2017), Первой Всероссийской научной конференции «Токсикология и радиобиология XXI века» (Санкт-Петербург, 2017), XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2018), XVII Всероссийском конгрессе – Всероссийской научно-практической конференции с

международным участием «Скорая медицинская помощь 2018» (Санкт-Петербург, 2018), VIII Балтийском форуме «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии» (Светлогорск, 2018), Международной конференции «Современные молекулярно-биохимические маркеры в клинической и фундаментальной медицине-2018» (Прага, 2018), III Всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2018), XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2019), Научно-практической конференции «Актуальные вопросы токсикологии и фармакологии» (Санкт-Петербург, 2019).

Победитель конкурса молодых ученых в рамках III Всероссийской научной конференции молодых ученых «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2018), конкурса молодых ученых в рамках Научно-практической конференции «Актуальные вопросы токсикологии и фармакологии» (Санкт-Петербург, 2019), конкурса работ молодых ученых и специалистов в номинации «Лучшая работа в области клинической токсикологии», который проводился журналом «Токсикологический вестник» и учредителем журнала «Токсикологический вестник» – ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора (Санкт-Петербург, 2019).

### **Личный вклад соискателя**

Самостоятельно автором или при его непосредственном участии были получены экспериментальные результаты, которые подвергались статистической обработке, систематизации и оформлению в рукописи диссертации автором лично. Постановка задач, интерпретация полученных результатов осуществлялись совместно с научным руководителем и другими соавторами публикаций.

## **Связь темы диссертации с плановой тематикой научно-исследовательской работы учреждения**

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» в рамках Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2015 – 2020 годы)».

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 4 публикации в журнале, рекомендованном ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований.

### **Структура и объем работы**

Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, включающих обзор литературы, описание материала и методов исследования, изложение собственных результатов и их обсуждение; заключения, выводов и списка 280 источников цитируемой литературы (170 отечественный и 110 зарубежных). Материалы диссертации изложены на 188 страницах машинописного текста. Работа иллюстрирована 34 таблицами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Считается, что в общей структуре отравлений ведущее место занимают поражения соединениями с первичным повреждением нервной системы. Такие вещества называют нейротоксикантами.

Нейротоксичность можно определить, как свойство токсического агента действовать на центральную нервную систему, вызывая повреждение ее структуры и/или нарушение функционирования (Куценко С.А., 2004). Токсический процесс может быть основан на любом изменении энергетического обмена, нарушении формирования или проведения нервного импульса, повреждении мембран клеток и синапсов. Повреждение нервной системы (нейротоксичность) может быть вызвано как прямым действием токсиканта, так и опосредованным – при повреждении остальных органов и систем. Вследствие этого, любое острое отравление в разной степени тяжести характеризуется повреждением нервной системы.

Проявления нейротоксических процессов возможны в разной форме: нарушения моторной, сенсорной, когнитивной функций, эмоционального статуса (Великородная Ю.И. и др., 2013). Часто нарушается зрение, слух, тактильная и болевая чувствительность. В зависимости от структуры, механизма действия токсиканта процессы протекают остро или хронически.

Острые нейротоксические процессы формируются после однократного воздействия в высокой дозе токсиканта, вызывающего нарушение передачи нервного импульса в синапсах или нарушение проведения по возбудимым мембранам. Изменения чаще связаны с нарушением физиологических и биохимических механизмов в нервной системе. При этом возможна гиперактивация нервных структур, либо их угнетение (заторможенность, утрата сознания). Основными синдромами поражения нервной системы при острых отравлениях являются (Бонитенко Е.Ю. и др., 2010):

- различные расстройства сознания;
- нейровегетативные нарушения;

- двигательные нарушения;
- отек головного мозга;
- периферические невропатии.

Наиболее важными синдромами поражения ЦНС, которые представляют угрозу жизни пострадавших, являются расстройства сознания (психической активности), включающие в себя угнетение, или выключение сознания (депримирующая форма) и нарушение (извращение, изменение) сознания (продуктивная форма) (Ефременко И.И. и др., 2018).

Периоды острых отравлений токсическими агентами можно разделить на начальный (первый), когда быстро нарастают признаки интоксикации, острый (второй), когда наблюдаются максимальные проявления отравления, период восстановления (третий), при благополучном протекании и период последствий (четвертый, исхода) поражения. Из этого следует, что повреждающее действие токсического агента не заканчивается его выведением из организма. Поэтому нарушения гомеостаза, которые возникли в токсикогенную фазу интоксикации, переходят в соматогенную и могут сохраняться на клинически значимом уровне достаточно долго, и нести серьезную угрозу жизни и здоровью пациента в отдаленных последствиях после острого отравления (Лужников Е.А. и др, 2009).

Анализ данных литературы показал наличие частных и общих механизмов токсического действия. Под частными понимают первичный этап взаимодействия токсиканта и организма на молекулярно-клеточном уровне регуляции гомеостаза. Под общими понимают их дальнейшее взаимодействие, выражающееся в нарушении функционирования всех систем организма (Куценко С.А., 2004). Данное понятие эквивалентно определению патогенеза. Основу токсичности большинства нейротоксикантов составляет действие их на возбудимые мембраны и механизмы передачи нервного импульса в синапсах (Метрологические аспекты. В 2-х томах. Под ред. Исаева Л.К., 1997). В то же время, последствия нарушений энергетического и пластического обмена для нервной системы также могут приводить к тяжелым поражениям. Недостаточность энергообеспечения может быть следствием первичного поражения клеток нервной системы (интоксикация

цианидами, производными фторкарбоновых кислот и др.) и опосредованного действия токсикантов, путем нарушения гемодинамики, внешнего дыхания, кислородтранспортных функций крови (Куценко С.А., 2004). Больше всего нарушение энергетического обмена отражается на состоянии нейронов, в которых высок уровень процессов тканевого дыхания и синтеза макроэргов (Метрологические аспекты. В 2-х томах. Под ред. Исаева Л.К., 1997). Нейроны малого размера с большим количеством дендритов более чувствительны к гипоксии, чем большие нейроны с длинными аксонами и малым количеством дендритов (мотонейроны). В сером веществе мозга наиболее чувствительными к гипоксии являются кора больших полушарий (малые гранулярные клетки – 4 слой), кора мозжечка (клетки Пуркинье), гиппокамп (клетки полей Н1 и Н2) (Куценко С.А., 2004).

При рассмотрении динамики развития интоксикации всегда возникает проблема оценки соотношения специфического и неспецифического действия нейротоксиканта и характера токсических поражений. По-видимому, следует согласиться с Е.А. Лужниковым, который в этом вопросе важное значение придает временному фактору (Лужников Е.А., 2007). То есть специфическое действие наиболее ярко проявляется в ранней стадии острых отравлений – токсикогенной стадии, тогда как неспецифическое действие определяет вторую, клиническую, стадию отравления – соматогенную стадию интоксикации, развивающуюся после удаления или разрушения токсиканта (Cunha-Oliveira T. et al., 2008). Однако это лишь условное разделение, которое упрощает определение токсикодинамики.

В отечественной токсикологии сформировалось представление о том, что проблема острых отравлений нейротоксикантами чрезвычайно актуальна. На этом фоне значительно меньше внимания уделяется вопросу о возможности органического поражения ЦНС в качестве результата перенесенных острых интоксикациях указанными веществами. В данных отчетов токсикологических центров РФ отсутствуют сведения об отдаленных последствиях поражений ЦНС после тяжелых отравлений нейротоксикантами (Мусийчук Ю.И. и др., 1988). В



статистических отчетах по распространенности неврологических заболеваний также отсутствуют данные о возможной причинно-следственной связи тех или иных нозологических форм с предшествующими тяжелыми интоксикациями. Таким образом, при бытовых отравлениях, составляющих подавляющее большинство отравлений, последствия поражения ЦНС, проявляющиеся в отдаленном периоде после перенесенной острой интоксикации, с ней не связываются. Между тем описанные отдаленные последствия поражения нервной системы после перенесенных профессиональных отравлений разнообразны и характеризуются различной симптоматикой в зависимости от локализации процесса, нейротропности токсиканта и чувствительности определенных отделов нервной системы к воздействию конкретного нейротоксического яда, тяжести перенесенной интоксикации, индивидуальной чувствительности пострадавшего, наличия других заболеваний и травм (Горский А.А. и др., 2014). Одной из основных причин профессиональной патологии нервной системы являются острые и хронические отравления и их последствия. Однако улучшение условий труда и техники безопасности, улучшение медицинского обслуживания, проведение профилактических мероприятий обусловили не только значительное снижение числа профессиональных заболеваний в нашей стране, но и привели к изменению качества и характера клинической картины профессиональной патологии ЦНС (Лахман О.Л. и др., 2003).

В клинической картине последствий профессиональных нейротоксикозов преобладают начальные формы поражения ЦНС, выявить которые возможно лишь при тщательном обследовании нервной системы. Действие токсина на нервную систему может проявляться прямым и опосредованным поражением в результате резко выраженной его нейротропности. Также изменения со стороны ЦНС могут быть вторичными, вследствие первичных сосудистых расстройств, нарушений иннервации сосудов, гипоксии головного мозга, биохимических сдвигов с последующим поражением нейронов и других нервных образований (Сычёва М.А. и др., 2015).

Следовательно, в настоящее время проблема отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами не может считаться полностью решенной. Поэтому к числу приоритетных и перспективных направлений, определенных на III Всероссийском съезде токсикологов, были названы исследования механизмов отдаленных эффектов действия химических веществ.

Моделирование на биологических объектах различных нарушений, имеющих место в клинике человека, и, прежде всего, нарушений, связанных с изменением функций центральной нервной системы, имеет свои особенности (Катаманова Е.В., 2012). Вероятно, формирование и развитие отдаленных нарушений в деятельности ЦНС после тяжелых отравлений нейротоксикантами в большей степени протекает в соответствии с механизмами неспецифических реакций организма на воздействие токсиканта. Это положение соответствует представлениям о том, «что в действии подавляющего числа ядов все же преобладают неспецифические (общие, интегральные) механизмы токсичности» (Лужников Е.А., 1982). В связи с этим возникает необходимость развернутого анализа патологических расстройств ЦНС экспериментальных животных после острых отравлений нейротоксикантами с различными механизмом действия и клиническими проявлениями. Поэтому в данном исследовании были выбраны токсиканты, позволяющие моделировать кому (тиопентал натрия) и судорожный синдром (2-(диметиламинометил) фениловый эфир диметилкарбаминовой кислоты гидрохлорид (условное название – фенилкарбамат)) (Мелехова А.С. и др., 2018).

### **1.1 Токсикологическая характеристика и механизм действия исследуемых нейротоксикантов**

Механизмы формирования отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами обычно связывают с инициируемыми интоксикацией изменениями на клеточном и молекулярном уровнях (Siesjo В.К. et al., 1980; Мусийчук Ю.И., 1988; Лукьянова Л.Д., 1997):

- оксидативным стрессом (цитотоксическое повреждение клетки);
- нарушением функций митохондрий (снижение энергообеспеченности клетки);
- апоптозом (саморазрушение клеточных структур);
- нарушением микроциркуляции и ишемией тканей;
- развитием тканевой гипоксии;
- нарушением гомеостаза внутриклеточного кальция;
- нарушением функционирования нейромедиаторных систем.

Данные механизмы являются неспецифическими и проявляются при всех острых отравлениях нейротоксикантами (Лужников Е.А., 1982; Голиков С.Н. и др., 1986; Катаманова Е. В., 2012; Нельсон Д., 2017). Однако можно предположить, что при отравлении нейротоксикантами с различным механизмом действия на первый план будут выходить и различные механизмы формирования отдаленных последствий.

### **1.1.1 Токсикологическая характеристика и механизм действия барбитуратов**

Для экспериментального исследования было выбрано производное барбитуровой кислоты – тиопентал натрия, с помощью которого моделировалось коматозное состояние.

Отравления препаратами данной группы составляют не менее 20-25% всех больных с острыми отравлениями, поступающих в специализированные токсикологические стационары, и 3% всех летальных исходов (Борисевич С.Н. и др., 2011; Носов А.В. и др., 2014).

Производные барбитуровой кислоты достаточно часто используются в медицинской практике в качестве противосудорожных и снотворных средств (Guillen S.R. et al., 1988). Барбитураты замедляют проведение нервных импульсов из-за подавления пейсмейкерной активности нейронов. Также, имеются литературные данные о подавлении активности NMDA-рецепторов (ионотропный

рецептор глутамата, селективно связывающий N-метил-D-аспартат) и активации ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов (ГАМК – гамма-аминомасляная кислота) (Ашмарин И.П. и др., 1996; Головки А.И. и др., 1996).

Острые тяжелые отравления барбитуратами характеризуются развитием коматозного состояния, тяжесть которого зависит от действующей дозы депримирующего агента. Они характеризуются отсутствием роговичного, сухожильного, болевого и зрачкового рефлексов. Также, наблюдается уменьшение чувствительности к углекислому газу и, как следствие, угнетение дыхательного центра и хеморецепторов каротидного клубочка. При остром тяжелом отравлении барбитуратами дыхание сохраняется за счет импульсов, получаемых с хеморецепторов каротидного клубочка и аортальных телец, которые возбуждаются под действием гипоксии. Однако при действии высоких концентраций наступает паралич дыхательного центра (Маркова И.В. и др., 1998; Маркова И.В. и др., 1999).

Барбитураты относятся к группе седативно-гипнотических препаратов (Лужников Е.А. и др., 1988; Лужников Е.А. и др., 1989). Они избирательно нарушают процессы формирования и проведения нервных импульсов и, как следствие, действуют угнетающе на центральную нервную систему. Среди проявлений острых отравлений веществами этой группы, необходимо выделить развитие коматозного состояния, нарушение дыхательной и сердечно-сосудистой систем, развитие токсической и гипоксической энцефалопатии, выраженные сдвиги метаболизма, формирование синдрома полиорганной недостаточности.

Ведущими механизмами формирования отдаленных нарушений ЦНС при тяжелых отравлениях тиопенталом натрия считают гипоксию (Фисун А.М. и др., 2005), поражение биологических мембран и нарушения микроциркуляции (Singh D. et al., 2004). При этом развитие гипоксии происходит по гипоксическому типу (угнетение дыхательного центра), циркуляторному типу (за счет сердечно-сосудистой недостаточности). Ацидотические сдвиги, нарушения микроциркуляции могут сопровождаться ухудшением утилизации кислорода в тканях (тканевая гипоксия). Определенное место в реализации нейротоксичности

барбитуратов играет и эндотоксикоз (Лужников Е.А. и др., 2005). Доказано, что после острых отравлений нейротоксикантами развивается циркуляторная гипоксия вследствие нарушения проведения нервного импульса, угнетения сосудодвигательного центра, развития судорог и нарушения тканевого дыхания в миокарде (Парк Д.В., 1973; Зайцева К.А., 1977; Машковский М.Д. и др., 1983; Могош Г., 1984; Меньшиков В.В. и др., 1987; Маркова И.В. и др., 1998, 1999; Лужников Е.А. и др., 2000).

Тканевая форма гипоксии развивается за счет достаточно длительного снижения аэробного дыхания клеток (Машковский М.Д., 1997; Чекман И.С., 1987; Сумин С.А., 2000) из-за невозможности переноса электронов на уровне коэнзим Q-цитохром С оксидоредуктазы (Нельсон Д. и др., 2017), а также снижения активности сукцинатдегидрогеназы (Долго-Сабуров В.Б., 1982), что, в свою очередь, приводит к нарушению функций митохондрий (Колчинская А.З., 1981; Лукьянова Л.Д., 1997; Молчанова Л.В. и др., 2001), процессам ресинтеза аденозинтрифосфата (АТФ) и гибели нейронов (Siesjo B.K. et al., 1980).

Гемическая форма гипоксии – затрудненное снабжение кислородом тканей, развивается вследствие роста сродства гемоглобина к кислороду, что в последующем приводит к сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина влево (Маркова И.В. и др., 1998, 1999). Данная форма гипоксии может развиваться вторично из-за нарушения кислотно-основного равновесия (Лузиков В.Н., 1980; Лужников Е.А. и др., 1989).

Все вышеизложенное позволяет сделать вывод, что гипоксия играет ключевую роль в патогенезе развития коматозного состояния после острого отравления нейротоксикантами данной группы, и является фактором, запускающим процессы нарушения обмена веществ на всех уровнях регуляции (Ермолов А.С. и др., 1998; Башарин В.А., 2001; Лапина Н.В. и др., 2016).

В литературе выделяют несколько механизмов запуска свободнорадикальных процессов в тканях в условиях гипоксии:

– увеличение концентрации внутриклеточного кальция и высвобождение арахидоновой кислоты, которая, в свою очередь, участвует в запуске образования

свободных радикалов (Schanne F. et al., 1979; Castilho R.F. et al., 1995; Chen C.J. et al., 2000);

– нарушение митохондриального дыхания, рост восстановления кислорода по одноэлектронному пути с образованием активных форм кислорода (Кларк Дж.М., 1988; Jaeschke H. et al., 1989; Tribble D.L. et al., 1990; Niknahad H. et al., 1995; Sasaki T. et al., 2001);

– угнетение ГАМК-эргической передачи в тканях головного мозга (Новиков В.Е. и др., 1982; Кения М.В. и др., 1993; Гусев Е.И. и др., 2001) и активация микросомальных оксигеназ (Парк Д.В., 1973; Голиков С.Н. и др., 1986, Кашуро В.А. и др., 2006).

Все вышеперечисленное является причиной усиления процессов свободнорадикального окисления, накопления активных форм кислорода и свободных радикалов (Siesjo B.K. et al., 1980; Jaeschke H. et al., 1989; Биленко М.В., 1989; Reilly P.M. et al., 1991; Copin J.C. et al., 1992; Новиков В.С. и др., 1998; Шевченко Ю.Л., 2000; Зозуля Ю.А. и др., 2000; Гусев Е.И. и др., 2001), вследствие чего происходит цитотоксическое повреждение при острых отравлениях (Лабори, А., 1970; Ross W.T. et al., 1979; Wood M. et al., 1980; Van Dyke R.A., 1982; Siegers C.P. et al., 1983; Weiss S.J., 1986; Younes M. et al., 1988; Кларк Дж.М., 1988; Skoulis N.P. et al., 1989; Allwood M.C. et al., 1990; Juurlink B.H., 1997; Fromenty B. et al., 1997; Yoshimura S. et al., 1999; Калмансон М.Л., 2001; Кашуро В.А. и др., 2003; Лапина Н.В. и др., 2016). Проведенные ранее исследования в области изучения отравлений веществами данной группы показали, что уже в токсикогенной стадии запускаются процессы программированной гибели нервных клеток (апоптоз) (Швецов А.В. и др., 2015). Это в свою очередь определяет развитие отдаленных последствий, в том числе и органических поражений головного мозга, что находит свое отражение высокой инвалидизации при данном виде интоксикаций (Швецов А.В. и др., 2016).

Наличие седативно-гипнотических свойств послужило причиной объединения острых отравлений данными токсикантами в единую статистическую учетную группу (Ахапкина В.И. и др., 2004; Васильев С.А., 2008).

Однако, несмотря на наличие определенного сходства в течении интоксикаций седативно-гипнотическими препаратами, они существенно различаются по механизмам угнетения ЦНС и относятся к различным классам нейротропных токсикантов, нарушающих процессы генерации, проведения и передачи нервного импульса.

В клинической картине отравления после приема агента в токсической дозе отмечаются сонливость, апатия, постепенно переходящие в глубокий сон. Далее отравленный впадает в состояние наркоза, трансформирующегося в кому. Угнетение рефлексов отражает степень угнетения ЦНС. Последовательность исчезновения рефлексов: роговичные – болевые – тактильные – сухожильные – зрачковые (Куценко С.А., 2004). Определенная периодичность отмечена и в изменении паттерна ЭЭГ у отравленных барбитуратами: на начальных этапах выявляется десинхронизация, далее появляются вспышки веретенообразной активности, сменяющиеся периодами биоэлектрического молчания.

Угнетение внешнего дыхания центрального генеза сопровождается также бронхореей, аспирацией рвотных масс. Нарастающая дыхательная недостаточность – одна из причин гипоксии. Возможны ателектатические процессы с последующей трансформацией в пневмонию (Мисюк Н.С. и др., 1990).

Гипотония – характерный симптом при отравлении барбитуратами (Голиков С.Н., 1978). В ее основе лежат процессы центрального угнетения сосудодвигательного центра, прямое кардиотоксическое действие и снижение тонуса сосудов. Снижение ударного и минутного объемов крови сопровождается ослаблением реакции периферических сосудов на эндогенные сосудосуживающие агенты (адреналин, дофамин и пр.). Повышение проницаемости сосудов (вследствие гипоксии, ацидоза, прямого действия токсоагентов на эндотелий) приводит к сгущению крови, гиповолемии, диспротеинемии, повышению тромбообразования (Медицинская токсикология: нац. рук. Под ред. Е.А. Лужникова, 2012).

Нарушения функции внешнего дыхания и сердечно-сосудистая недостаточность сопровождаются развитием метаболических сдвигов, смешанным ацидозом (Моррисон В.В. и др., 2015). Эти факторы служат основой гипоксии, нарушений микроциркуляции, что, в свою очередь, объясняет и иные клинические синдромы: поражение почек, иммуносупрессию, трофические поражения кожи и т.д. Судя по данным посмертной судебно-медицинской экспертизы, во всех случаях отравлений производными барбитуровой кислоты выявляется паренхиматозная дистрофия миокарда, печени, почек, дистрофические изменения нейронов. С удлинением сроков жизни пострадавших объемная доля дистрофических изменений увеличивается: в миокарде – с 34% в первые сутки до 45% на 10-е сутки; в печени соответственно – с 24% до 42%, в почках – с 24% до 41%; в центральных нейронах – с 0,23% до 12%. На 2-3-и сутки развиваются воспалительные осложнения со стороны дыхательной системы (Горская М.Н., 1992).

### **1.1.2 Токсикологическая характеристика и механизм действия карбаматов**

Карбаматы принадлежат к группе антихолинэстеразных (АХЭ) ядов, являются нейротоксикантами и вызывают гипоксию (Куценко С.А., 2004). Более 50 веществ часто используются как инстициды, фунгициды, гербициды и нематоциды для борьбы с синантропными насекомыми, как средства для лечения нейродегенеративных и онкологических заболеваний в медицинской практике, в качестве консервантов и косметических средств, в промышленности, а также в качестве диверсионных ядов (King A.M. et al., 2015).

Ацетилхолин является синаптическим медиатором нервных импульсов, действуя в:

1. ЦНС как нейротрансмиттер;
2. вегетативной нервной системе как преганглионарный нейротрансмиттер;



3. в постганглионарных нервных окончаниях вегетативной нервной системы;

4. на уровне нервно-мышечного соединения клетки (Гигиенические критерии состояния окружающей среды №64. Карбаматные пестициды: общее введение. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1991; Курдиль Н.В. и др., 2015).

Биологическая активность карбаматов была открыта в 1923 году – описана структура физостигмина или алкалоида эзерина, который содержится в зернах Калабарских бобов. Аналоги физостигмина были синтезированы в 1929 году и сегодня известно более тысячи производных карбаминовой кислоты. Первые инстициды – производные карбаминовой кислоты, были синтезированы в 1947 году (Мельников Н.Н. и др., 1985).

Производство карбаматных инстицидов постоянно увеличивалось до начала 80-х годов, но уже через 15-20 лет их популярность пошла на убыль (Каспаров В.А. и др., 1990). В результате катастрофы в городе Бхопал (Индия), которая привела к большим человеческим потерям, на многих заводах мира было приостановлено производство карбаматов, промежуточным продуктом получения которых является взрывоопасное соединение метилизоцианат (Каспаров В.А. и др., 1990).

Многие карбаматы с инстицидной активностью сегодня запрещены к применению из-за высокой токсичности (Гигиенические критерии состояния окружающей среды №64. Карбаматные пестициды: общее введение. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1991).

При использовании карбаматов в сельскохозяйственной практике они поступают в растения из почвы и обработанных семян, хорошо переходят в надземные органы растений и достаточно длительное время защищают их всходы. Карбаматы, как и фосфорорганические вещества (ФОС), конкурентно блокируют холинэстеразу, однако, делают это обратимо.

Острое тяжелое отравление ведет к накоплению ацетилхолина в холинергических синапсах, который вызывает судорожный синдром вследствие

перевозбуждения М- и Н-холинореактивных структур в центральной нервной системе и на периферии. Также у них есть прямые холиномиметические и холиносенсибилизирующие эффекты (Chapalamadugu S. et al., 2006).

Карбаматы могут проникать в организм человека через желудочно-кишечный тракт с отравленной водой и пищей. Высокоопасные соединения могут вызывать интоксикацию, действуя в форме аэрозоля через слизистую глаз и органы дыхания. При ингаляционном поступлении токсичность вещества в 10-50 раз выше, чем при приеме через рот. Карбаматы плохо проникают в организм через неповрежденную кожу. Незаряженные молекулы легко проникают через гематоэнцефалический барьер и оказывают непосредственное действие на холинергические синапсы мозга (Аляутдин Р.Н., 2018). Соединения, содержащие в молекуле четвертичный атом азота, обладают преимущественно периферическим действием (вегетативный и двигательный отделы периферической нервной системы).

Биотрансформация агентов происходит с участием монооксигеназных систем. Метаболиты гидролитических превращений (в основном формируются путем ферментативного гидролиза эфирной связи), как правило, биологически менее активны в сравнении с интермедиатами, образовавшимися посредством окисления (Chapalamadugu S. et al., 1992). Карбоксилэстеразы крови способны связывать некоторые карбаматы (карбофуран, пропоксур, алдикарб). Для физостигмина такой путь детоксикации не характерен (Gupta R.C., 2009).

Процессы конъюгации (сульфатная, глюкуроноидная, глутатионовая и др.) могут быть разными – в зависимости от конкретного препарата (Jann M.W. et al., 2002). Элиминация продуктов конъюгации и неизмененного вещества осуществляется через почки. Активные концентрации карбаматов в крови могут быть определены еще в течение не более 3-5 часов.

Клиническая картина интоксикации карбаматами определяется аккумуляцией ацетилхолина в нервных окончаниях (Курдиль Н.В. и др., 2015). Симптомы интоксикации можно классифицировать по следующим трем группам:

1. Мускариноподобные проявления:

- повышение бронхиальной секреции, обильное пото- и слюноотделение, слезотечение;

- сужение зрачков, бронхоспазм, абдоминальные спазмы (рвота и диарея);
- брадикардия.

## 2. Никотиноподобные проявления:

- тахикардия;
- фасцикулярные подергивания мелких мышц (в тяжелых случаях также дыхательных и диафрагмальных мышц).

## 3. Симптомы и признаки поражений центральной нервной системы:

- головокружение;
- одышка;
- головная боль;
- беспокойство;
- потеря памяти;
- тонические или тонико-клонические судороги;
- угнетение деятельности дыхательного центра;
- нарушения движений, кома.

Все перечисленные симптомы могут проявляться в различных друг с другом сочетаниях и варьируются в степени проявления и последовательности возникновения в зависимости от вещества, дозы и пути воздействия. Продолжительность проявлений симптомов обычно короче, чем при отравлении ФОС. Средняя тяжесть интоксикации может сопровождаться только мускарино- и никотиноподобными проявлениями (Гигиенические критерии состояния окружающей среды №64. Карбаматные пестициды: общее введение. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1991). Признаки хронического отравления носят интермиттирующий (преходящий) характер и сходны с проявлениями острой интоксикации (Медведь Л.И., 1974).

Препараты на основе карбаматов относятся к 1 и 3 классам опасности для человека и 1 – для пчел (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2012 год.).

При остром отравлении карбаматами механизмы развития и клиническая картина весьма схожи с проявлениями поражения фосфорорганическими соединениями, однако, характеризуется меньшей продолжительностью. При пероральном поступлении отмечается усиление перистальтики кишечника, схваткообразные боли в области живота, тошнота, рвота, понос. При ингаляционном поступлении вначале отмечается обусловленное бронхоспазмом, а также гиперсекрецией бронхиальных желез чувство стеснения в груди и затруднение дыхания (Курдиль Н.В. и др., 2015).

При резорбции высоких доз токсикантов клинические проявления усиливаются. При проникновении карбаматов через гематоэнцефалический барьер происходит как активация холинергических механизмов мозга, так и раздражение рефлексогенной зоны синокаротидного клубочка. В результате сначала возникают различные психоэмоциональные нарушения, затем возбуждение и далее угнетение дыхательного и сосудодвигательного центров, что проявляется на начальной стадии подъемом артериального давления, а затем возможна остановка дыхания. Также отмечаются фасцикуляции мышечных групп, а при тяжелом отравлении карбаматами развивается судорожный синдром (Giampreti A. et al., 2013; Wolansky M.J. et al., 2013). Если в течение нескольких часов не развивается летальный исход, общее состояние относительно быстро улучшается.

Судорожный синдром и сопутствующая гипоксия, которые сопровождают острое тяжелое отравление, являются пусковым механизмом структурно-функциональных поражений центральной нервной системы и их отдаленных последствий (Sparenborg S. et al., 1992). Анализ литературных данных показал, что наибольшее повреждение нервных клеток наблюдалось в коре головного мозга, пириформной коре и гиппокампе. При отравлении антихолинэстеразными веществами также наблюдается увеличение концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$

и усиление накопления свободных радикалов, что в дальнейшем приводит к повреждению мембран нейронов и митохондрий. В процессе гидролиза фосфатидилхолина накапливаются свободные жирные кислоты и холин в тканях ЦНС (Flynn C.J. et al., 1987).

## **1.2 Последствия отравления нейротоксикантами**

Проведенный анализ литературы показал, что ведущим механизмом развития последствий воздействия веществ нейротоксического действия является острая дисфункция центральной нервной системы, возникающая в результате воздействия как специфических, так и неспецифических (универсальных) механизмов поражения головного мозга (Шилов В.В. и др., 2008). К специфическим механизмам относится избирательное действие веществ на различные звенья нейромедиаторных систем (пре- и постсинаптического уровней). Реализация таких эффектов зависит от дозы и времени экспозиции токсиканта. Неспецифические механизмы включают в себя расстройства биоэлектrogenеза, нарушения мозгового кровотока, метаболические расстройства, нарушения процессов свободно-радикального окисления, эндогенную интоксикацию и иммуносупрессию на фоне гипоксии. Доказано, что после острых отравлений нейротоксикантами развивается именно циркуляторная гипоксия, вследствие нарушения проведения нервного импульса, угнетения сосудодвигательного центра, развития судорог и нарушения тканевого дыхания в миокарде (Парк Д.В., 1973; Зайцева К.А., 1977; Машковский М.Д. и др., 1983; Могош Г., 1984; Меньшиков В.В. и др., 1987; Маркова И.В. и др., 1998, 1999; Лужников Е.А. и др., 2000). В клинической картине острых нейротоксических процессов в ЦНС выделяют чрезмерную активацию нервных структур (возбуждение, судорожный синдром), либо угнетение функций ЦНС (заторможенность, оглушенность, утрата сознания), либо расстройство высшей нервной деятельности с развитием преходящего психодислептического состояния вплоть до интоксикационного психоза (неадекватные эмоции, иллюзии, галлюцинации, бред и т.д.). При остром отравлении любым центральным

нейротоксикантом, в зависимости от действующей дозы, можно наблюдать лишь отдельные признаки каждого из упомянутых эффектов (Куценко С.А., 2004). Однако значительное преобладание в токсическом действии возбуждающего, тормозного или психодислептического компонентов, позволяет условно относить нейротоксиканты, соответственно, в группу судорожных, седативно-гипнотических и психодислептических агентов (Куценко С.А., 2004; Лапина Н.В. и др., 2018).

Ведущими синдромами последствий воздействия веществ нейротоксического действия считаются астенический и психоорганический (Васильев С.А., 2008). Астенический синдром является полиморфным. Помимо слабости и утомляемости обычно наблюдаются и различные другие расстройства: когнитивные симптомы (нарушение внимания, рассеянность, снижение памяти), болевые расстройства (кардиалгии, абдоминалгии, дорсалгии), вегетативная дисфункция (тахикардия, гипервентиляционные расстройства, гипергидроз), мотивационные и обменно-эндокринные расстройства (диссомнии, снижение либидо, похудание, дисменорея), эмоциональные расстройства (чувство внутреннего напряжения, тревожность, страхи, лабильность или снижение настроения), гиперестезии (Ахапкина В.И. и др., 2004; Дюкова, Г.М., 2012). Ключевыми звеньями психоорганического синдрома являются расстройства эмоций (эмоциональная лабильность) и интеллектуально-мнестическое снижение (недопонимание, недоосмысление). Всегда регистрируются сдвиги со стороны вегетативной нервной системы, часто выявляются эндокринные нарушения, метаболические дисфункции. Присутствует не только психопатологический, но и неврологический феномен. В неврологической практике проявления психоорганического синдрома определяют термином «энцефалопатия» (Краснов В.Н., 2011).

Патогенетические механизмы отдаленных последствий еще не до конца изучены, поэтому разработка экспериментальных подходов к исследованию особенностей и закономерностей последствий воздействия на нервную систему химических нейротропных агентов позволит решить актуальные вопросы поиска

патогенетически обоснованных критериев диагностики, эффективных методов терапии и профилактики отдаленных эффектов нейроинтоксикации.

### **1.3 Изменение высшей нервной деятельности в отдаленном периоде после острых отравлений**

Изменения окружающих условий вызывают адаптивные реакции со стороны центральной нервной системы животного. Наблюдается увеличение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности (Бахтиярова Ш.К. и др., 2017). Это является необходимым компонентом для выработки дальнейшей программы поведения. Но при избыточном влиянии неблагоприятного фактора может наблюдаться обратная реакция – снижение двигательного и когнитивного компонента. Следует отметить, что в многочисленных литературных источниках встречаются различные интерпретации понятия «когнитивные функции». Мы руководствуемся определением (Захаров В.В. и др., 2005), согласно которому «под когнитивными (познавательными) функциями понимаются наиболее сложные функции головного мозга, с помощью которых осуществляется процесс рационального познания мира и обеспечивается целенаправленное взаимодействие с ним.

Исследование двигательной активности животных – один из важных методов оценки функций нервной системы, используемый для оценки воздействия химических и физических агентов (Schardein J.L. et al., 1989). Двигательную активность можно рассматривать как отдельно, так и в сумме с оценкой других параметров поведения, позволяющих исследовать такие функции как привыкание (снижение уровня активности во время сеанса, или от сеанса к сеансу), пространственное распределение (местоположение в пределах камеры «открытого поля»), что может быть использовано для оценки более тонких процессов функционирования нервной системы (Пермяков А.А. и др., 2013). Тесты на обучение и память включают пространственную или позиционную навигацию, простые или сложные рефлекторные ответы в результате положительного или отрицательного подкрепления. Методики воспроизводят

обучение (приобретение навыка), или память – удержание навыка (Moser V.C., 2000).

Для функционального тестирования нейротоксичности используют тест пассивного избегания, требующий развития ассоциаций у животных.

Анализ данных литературы показал снижение двигательной активности в тесте «открытое поле» и когнитивных функций в тесте «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) после отравления этанолом и другими нейротоксикантами (Лисицкий Д.С. и др., 2013; Лисицкий Д.С. и др., 2015).

Интерпретация различными авторами одних и тех же поведенческих реакций лабораторных животных в тесте «открытое поле» не всегда одинакова. Это во многом зависит от цели и задач эксперимента, метода его проведения и выбора животных. Чаще всего (Симонов П.В., 1987) двигательная активность (горизонтальная, вертикальная) характеризует состояние активно-поискового компонента поведения, а груминг – пассивно-оборонительного компонента. Есть данные, описывающие уровень двигательной активности животного (горизонтальная, вертикальная) как ориентировочно-исследовательский компонент поведения (Маркель А.Л., 1981; Буреш Я., 1991). Однако есть и другие данные, которые свидетельствуют, что лишь горизонтальные перемещения характеризуют фактор эмоциональности, в то время как вертикальные стойки и груминг можно рассматривать лишь как неспецифическое проявление ориентировочно-исследовательской активности (Пошивалов В.П., 1978). Некоторые авторы сравнивают высокую эмоциональную реактивность с низкой двигательной активностью (Буреш Я., 1991). Большинство авторов склоняются к утверждению, что снижение двигательной активности – это проявление защитного торможения в ответ на повреждение различного характера (стресс, отравление, травмы) (Маркель А.Л., 1981; Калуев А.В., 2002).

По литературным данным, в проведенных экспериментальных исследованиях одним из последствий тяжелого острого отравления этанолом являются когнитивные нарушения, выражающиеся у экспериментальных животных расстройствами процессов памяти и обучения (Лисицкий Д.С., 2013;



Касенов Б.Ж. и др., 2016). Данный процесс включает четыре основных взаимодействующих компонента:

- восприятие информации;
- обработку и анализ информации;
- запоминание и хранение информации;
- обмен информацией, построение и осуществление программы действий.

Согласно мнению этих авторов, с каждым из перечисленных этапов связана определённая когнитивная функция: восприятие информации; обработка и анализ информации – так называемые исполнительные функции, включающие произвольное внимание, обобщение, выявление сходств и различий, установление ассоциативных связей; запоминание и хранение информации – память; обмен информацией и построение, и осуществление программы действий – функции, к которым относят навыки целенаправленной двигательной активности и речь у человека. Когнитивные нарушения – это ухудшение одной или нескольких из перечисленных функций (Старчина Ю.А., 2017). Таким образом, имеются достаточные основания считать процессы обучения (восприятие, обработка и анализ информации) и памяти (запоминание и хранение информации) важнейшими элементами когнитивных функций, подлежащими объективной оценке у человека и у различных видов животных (Екушева Е.В., 2018).

#### **1.4 Роль антиоксидантной системы в инактивации процессов свободно-радикального окисления**

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что гипоксия, развивающаяся на фоне острого отравления нейротропными ядами, приводит к накоплению свободных радикалов в клетке, а также запуску неспецифических механизмов клеточной гибели. Однако некоторые исследователи считают, что активные формы кислорода регулируют процессы клеточной дифференцировки, пролиферации и апоптоза клеток (Brüne В. et al., 2013; Швецов А.В. и др., 2015), в том числе посредством изменения активности редокс-чувствительных транскрипционных факторов (Ляхович В.В. и др., 2006). Также доказана их

важная роль в качестве сигнальных молекул, в первую очередь оксида азота, перекиси водорода и супероксидного анион-радикала (Gladwin M.T. et al., 2000). Но данные утверждения применимы в случае их небольшой концентрации. В нормальном состоянии свободные радикалы образуются в чрезвычайно умеренном количестве и не оказывают повреждающее действие. Они инактивируются с помощью компонентов антиоксидантной системы, которая поддерживает их концентрацию на определенном уровне (Сидорин Г.И., 1991; Тиунов Л.А., 1995; Владимиров Ю.А., 2000; Меньщикова Е.Б., 2006; Надеев А.Д. и др., 2014). Однако в случае значительного повышения образования свободных радикалов в результате нарушения окислительно-восстановительного баланса, ресурсы антиоксидантной системы могут быть исчерпаны и наступает повреждение клетки или даже ее гибель.

Окислительный стресс – это изменение баланса антиоксидантов и прооксидантов в сторону относительного превалирования последних, что ведет к повреждению макромолекул и нарушению редокс-регуляции (Stahl W. et al., 1998; Кашуро В.А. и др., 2012). Поэтому окислительный стресс считается ведущим механизмом рассогласования регуляции внутриклеточного метаболизма, а также причиной развития различных патологических процессов в клетке, таких как канцерогенез, воспаление и различные возрастные изменения (Кашуро В.А., 2003; Батоцыренова Е.Г. и др., 2014).

Окислительный стресс является одним из ключевых механизмов повреждения нервной ткани, запускающий патологические реакции, которые необратимо повреждают клетку и активируют реакции апоптоза (Швецов А.В. и др., 2016). Гипоксия ведет к нарастанию количества недоокисленных, промежуточных форм кислорода. Это можно наблюдать при различных повреждениях нервной системы, как остром, так и хроническом. Свободные радикалы представляют собой молекулы, у которых на внешней орбитали находятся неспаренные электроны, которые демонстрируют весьма высокую реакционную способность и, соответственно, имеют выраженную способность к повреждению различных клеточных структур (Сыровая А.О. и др., 2012).

Первым этапом развития окислительного стресса является избыточное образование и накопление активных форм кислорода. Это может происходить вследствие множества причин, например, при нарушении функций митохондрий, подавлении системы антиоксидантной защиты. Активные формы кислорода запускают перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот с образованием токсичных продуктов (Оковитый С.В., 2003).

Антиоксидантная система, в частности система глутатиона, играет ведущую роль в протекции клетки от повреждающего действия активных форм кислорода и сохранении гомеостатического баланса в клетке (Кашуро В.А. и др., 2006). По ее состоянию можно получить представление о свободно-радикальном гомеостазе на фоне того или иного воздействия. Поэтому важно исследовать изменения ее активности в отдаленных последствиях острых отравлений нейротоксикантами.

Исходя из утверждения С.Н. Голикова, в механизме повреждающего действия практически всех токсикантов преобладают неспецифические (характерные для всех групп веществ) реакции (Голиков С.Н. и др., 1986). Однако важно обратить внимание на сложность патогенетических механизмов отдаленных последствий острых отравлений непосредственно для нервной системы. Поэтому необходима комплексная оценка уровня повреждения, включающая в себя определение не только активности антиоксидантной системы, характеризующей функциональное состояние всего организма, но и более специфичных для нервной ткани показателей ее повреждения.

### **1.5 Биомаркеры повреждения нейронов**

За последние 25 лет значительно возрос интерес к изучению различных биомаркеров повреждения нейронов (Kochanek P. et al., 2008). Биомаркер – это индикатор биологических процессов или ответов на проводимое лечение (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). С 1980-х годов было опубликовано несколько обзорных статей, касающихся использования биомаркеров при черепно-мозговых травмах (ЧМТ) (Bakay R. et al., 1986; Ingebrigtsen T. et al., 2002; Svetlov S. et al. 2009; Li J. et al. 2010). Данные литературы подтверждают

необходимость дальнейших исследований биомаркеров для определения их клинической значимости. В идеале, биомаркер отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами должен отражать уровень повреждения нейронов и коррелировать с функцией мозга. Также биомаркеры нейронального повреждения могут облегчить диагностику степени нарушений в отдаленном периоде после интоксикации, улучшить прогнозирование, контролировать текущие патологические процессы и определить эффективность лечения (Saatman K. et al. 2008). Так, креатинкиназа, содержащаяся в нервной ткани (СК-ВВ), и нейронспецифическая енолаза применяются в клинической практике для определения тяжести повреждения тканей головного мозга лишь в острый период, а для отдаленных последствий их клиническая значимость неизвестна. Таким образом, еще не определен единый универсальный биомаркер и, вполне вероятно, что их комбинация будет иметь более высокую клиническую значимость.

### **1.5.1 Лактатдегидрогеназа и креатинкиназа**

Лактатдегидрогеназа и креатинкиназа (креатинфосфокиназа) считаются потенциальными биохимическими маркерами поражения головного мозга. Головной мозг среди других тканей организма отличается высоким уровнем энергетического обмена (Schurr A., 2002). Непрямым показателем энергетического состояния тканей принято считать концентрацию специфических ферментов – маркеров, принимающих непосредственное участие в энергетическом обмене: креатинкиназа – при ресинтезе аденозинтрифосфата (АТФ) и лактатдегидрогеназа – при гликолитическом пути энергообеспечения в анаэробных условиях метаболизма (Халилов Р.А. и др., 2017). Метаболизм головного мозга целиком зависит от завершенности энергетической реакции в митохондриях и возможности их регуляции в измененных условиях жизнедеятельности. ЛДГ является одним из основных ферментов энергетического обмена организма. Фермент катализирует обратимую реакцию превращения пировиноградной кислоты в молочную в анаэробных условиях. Однако определение активности ЛДГ и креатинкиназы непосредственно в тканях

головного мозга позволяет отразить состояние не всего энергетического обмена, а лишь процессов анаэробного гликолиза и накопления АТФ, то есть являются их маркерными критериями.

Церебральная ЛДГ была впервые описана Робинсоном в 1965 году (Robinson N., 1965). Материал был взят из передней лобной доли коры головного мозга человека. Однако изотип ЛДГ, характерный в большей степени для центральной нервной системе, также может быть обнаружен в сердце, почках и эритроцитах (Lindblom U. et al., 1967). Именно по этой причине системное повреждение (в том числе острое тяжелое отравление), а также изолированное повреждение нейронов может вызвать подъем в сыворотке ЛДГ. Первоначальные исследования в 1970-х годах выявили положительную корреляцию между ЛДГ, тяжестью повреждения головного мозга и клиническим исходом (Lindblom U. et al., 1967). В экспериментальных работах, проводимых на культурах нейронов крыс, концентрация высвобожденной цитозольной ЛДГ в среде была использована как маркер гибели клеток (Mc Wang I.J. et al., 2002; Wang X. et al., 2002; Kagiya T. et al., 2004).

Увеличение концентрации изоформ ЛДГ в сыворотке крови является маркером наличия ишемических процессов (Zhang J.G. et al., 2000). В процессах аэробного и анаэробного окисления фермент ЛДГ играет неоднозначную роль, в связи с этим полученные ранее данные об активности ЛДГ при ишемическом повреждении головного мозга противоречивы (Donnan G.A. et al., 1983; Parakh N. et al., 2002; Schurr A., 2006; Одинак М.М. и др., 2014).

Существует три идентифицируемых изотипа креатинкиназы, в том числе креатинкиназа мозга, которая локализована в астроцитах ЦНС. Было показано, что уровни СК-ВВ значительно повышаются в спинномозговой жидкости после гипоксического поражения головного мозга (Kärkelä J. et al., 1993). Это доказывает возможность высвобождения СК-ВВ из-за гипоперфузии головного мозга вследствие системной травмы. КК содержится во внутренней мембране митохондрий клеток головного мозга. Активность креатинкиназы в митохондриях достаточна для того, чтобы в присутствии избытка креатина обеспечить

превращение всего образующегося в процессе окислительного фосфорилирования АТФ в креатинфосфат. Освобождающийся при этом аденозиндифосфат (АДФ) вновь фосфорилируется в митохондриях (Береговская Н.Н., 1993). Таким образом, высокая активность креатинкиназы в митохондриях может поддерживать работу дыхательной цепи на постоянно высоком уровне в тканях, лишь периодически испытывающих потребность в большом количестве АТФ. Однако активность ЛДГ и КК обычно определяется лишь в сыворотке крови и чаще в острую фазу интоксикации, в момент их выхода в кровь (Диксон М., 1982). Но для оценки тяжести отдаленных последствий острых отравлений их активность необходимо исследовать непосредственно в тканях головного мозга, так как уже нет массивного повреждения клеток и выброса ферментов в кровяное русло.

### **1.5.2 Специфические показатели повреждения ткани головного мозга – нейротрофические факторы**

Гипоксия является основным фактором повреждения клеток головного мозга при ишемии, интоксикациях и других патологиях. Разрушение нейронных связей и самих нервных клеток происходит вследствие недостаточного поступления к ним кислорода (Almeida R.D. et al., 2005; Кашуро В.А. и др., 2015). Кроме того, происходит разрушение миелиновых оболочек и нарушение метаболизма нейронов. Морфологический субстрат возможных отдаленных последствий – это ускорение процессов апоптоза, нарушение функций гематоэнцефалического барьера, демиелинизация нервных окончаний, а также нейродегенеративные процессы (Кашуро В.А. и др., 2015; Щецов А.В. и др., 2015). Запуск механизмов апоптоза и последующая гибель клеточных популяций в нервной ткани сопровождаются естественной защитной реакцией клеток тканей мозга – повышением активности синтеза нейроспецифических белков, колебания концентраций которых, как было указано ранее, также позволяют оценивать степень воздействия и повреждения нервной ткани в отдаленном периоде после острых отравлений нейротоксикантами (Князькова Л.Г. и др., 2008; Щецов А.В.

и др., 2015). Поэтому необходимо исследовать концентрацию специфических для нервной системы маркеров нейропротекции-нейродеструкции.

Основной белок миелина MBP (Myelin Basic Protein) указывает на начавшееся разрушение миелиновых оболочек в нервной ткани, что является весьма специфическим признаком повреждения (Чехонин В.П. и др., 2000). Этот белок содержится также в растущих олигодендроглиальных клетках, связан с клеточной мембраной и высвобождается в сыворотку при повреждении головного мозга или во время демиелинизации. В сочетании с нейронспецифической енолазой (Enolase, Neuron Specific), основной белок миелина MBP может быть полезен при скрининге на наличие травматического повреждения головного мозга у детей (Berger R.P. et al., 2006). Хотя экспериментальные исследования продемонстрировали хорошую специфичность к травматическому повреждению головного мозга, он имеет ограниченную чувствительность (Berger R.P. et al., 2005), однако, при его измерении наряду с определением уровней NSE имеет больший потенциал (Berger R.P. et al., 2006).

Енолазы – это гликолитические ферменты, состоящие из трех разных субъединиц ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), которые первоначально были описаны у четырех разных видов животных в 1960-х годах (Moore V.W. et al., 1965). Потенциальная ценность определения NSE очевидна, так как ее действие напрямую связано с нейрональной активностью, а не с глиальными или шванновскими клетками (Ingebrigtsen T. et al., 2002). Нейронспецифическая енолаза является биомаркером дифференцированных нейронов, доступным для лабораторного исследования в настоящее время. Является внутриклеточным энзимом и присутствует в клетках нейроэктодермального происхождения. Нейронспецифическая енолаза лучше всего изучена из всех известных нейронспецифических белков и адекватно отражает мембранные функции гематоэнцефалического барьера. NSE применяют для диагностики угрожающих жизни состояний, которые характеризуются церебральной ишемией и гипоксией мозга, а также для изучения патогенеза неврологических заболеваний, сопровождающихся нарушением функции гематоэнцефалического барьера (Дорофейков В.В. и др., 2016).

Нейротрофический фактор головного мозга BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) принимает участие в дифференцировке нейронов и формировании синаптических контактов в процессе нейрогенеза, а также активно корректирует метаболизм зрелых нейронов и защищает нейроны от ишемии и гибели, провоцируемой удалением аксонов (Sun X. et al., 2008; Zhu X.H. et al., 2010).

Анализ литературных данных указывает на протективную роль пигментного фактора эпителиального происхождения PEDF (Pigment Epithelium Derived Factor) при ингибировании апоптоза под действием  $H_2O_2$  на культуры клеток сетчаточных нейронов (Cao W. et al., 1999). Также он предотвращает перераспределение синаптических белков окклюдина и N-кадгерина в клеточных мембранах пигментного эпителия, защищает от реорганизации актина и активации сигнального каскада белка теплового шока p38/27-кДа (Ho T.C. et al., 2006). Также PEDF предохраняет гранулярные клетки мозжечка (Taniwaki T. et al., 1995), нейроны гиппокампа (DeCoster M.A. et al., 1992) и двигательные нейроны спинного мозга (Bilak M.M. et al., 1999) от токсического действия глутамата. Основным механизмом антиапоптотического действия PEDF на гранулярные клетки выступает активация транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B (Yabe T. et al., 2001; Минкевич Н.И. и др., 2010). Таким образом, он защищает нервные клетки от повреждений.

Белок S-100, связывающий кальций, впервые описанный Б.В. Моором в 1965 г, специфичен для астроцитарной глии (Moore B.W., 1965). Наибольшее его количество (до 85-90% от общего содержания в нервной ткани) сосредоточено в астроцитах; 10-15% расположено в нейронах, минимальное количество определяется в олигодендроцитах. S-100 за счет способности связывать кальций образует опорный каркас для нейронов. В низких концентрациях он активирует пролиферацию астроцитов и стимулирует регенерацию нервных клеток (Hu J. et al., 1999). Тогда как в высоких концентрациях может самостоятельно индуцировать ферменты окислительного стресса и вызывать апоптоз (Barger S.W. et al., 1995). Белок S100 регулирует многие внутриклеточные и экстраклеточные



процессы, обеспечивает рост и подвижность клеток, участвует в регуляции клеточного цикла, в механизмах транскрипции и дифференциации, в энергетическом метаболизме, а также во многих других жизненно важных процессах, обеспечивающих жизнеспособность клетки (Sedaghat F. et al., 2008). Белок S100 модулирует внутриклеточный кальциевый гомеостаз (как в нейронах, так и в глии) через повышение специфической проводимости мембраны и высвобождение кальция из внутриклеточных депо (Barger S.W. et al., 1992). При этом он оказывает регуляторное действие на активность кальций-зависимых белков и ферментов (в частности, кальмодулина, протеинкиназы С, кальпаина и др.) (Donato R., 2001).

Глиально-фибрилярный кислый белок (GFAP) был обнаружен в глиальных клетках ЦНС. Польза GFAP в качестве индикатора патологии ЦНС была отмечена при многочисленных состояниях, включая инфаркт головного мозга, неврологические заболевания, энцефалопатию и черепно-мозговую травму (Eng L. et al., 1971). Уровни GFAP выше у пациентов с массивными поражениями в сравнении с диффузным повреждением ЦНС (Mondello S. et al. 2011). Исследования показали, что GFAP является лучшим предиктором тяжелой инвалидности и вегетативных состояний (Pelinka L.E. et al. 2004; Ost M. et al., 2006). GFAP показывает высокую степень точности прогноза исхода после тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ), но еще недостаточно изучен при легких и средних травмах. Глиальный фибриллярный кислый протеин высокоспецифичный белок головного мозга, который начинает активно синтезироваться после астроглиоза. Нарушение целостности мембран астроцитов, определяемое по росту концентрации GFAP в сыворотке крови, свидетельствует о нарушении целостности гематоэнцефалического барьера, с другой стороны, является предшественником гибели нервных клеток. Динамическое определение уровня данного белка в сыворотке крови позволяет оценивать тяжесть поражения головного мозга при развитии гипоксических и ишемических повреждений (Дементьева И.И. и др., 2012).

Мелатонин является одним из самых мощных эндогенных антиоксидантов. Его антиоксидантная активность определена во всех клеточных структурах, включая ядро клетки. Мелатонин обладает протективными свойствами в отношении свободнорадикального поражения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), белков и липидов (Reiter R.J. et al., 2002), способен связывать свободные радикалы (гидроксил, свободный кислород, пероксинитрит и т.д.) и стимулировать активность ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) (Мендель В.Э. и др., 2010), обеспечивает защиту клеток мозга, по меньшей мере, двумя способами: разложением пероксида водорода до воды и утилизацией свободных гидроксильных радикалов (Wang X. et al., 2009).

Несмотря на то, что идеальные маркеры повреждения головного мозга не найдены, повышение содержания нейроспецифических белков в крови и других тканях может ассоциироваться с признаками ранних неврологических нарушений, степенью повреждения головного мозга, а также исходом заболевания. Так в остром периоде поражения ЦНС происходит ожидаемый выход в кровяное русло внутриклеточных нейропептидов. Однако в отдаленном периоде после острой интоксикации не происходит массивной гибели клеток. Таким образом, концентрация нейротрофических факторов зависит либо от уровня их синтеза, либо от скорости их потребления и предположительно свидетельствует о состоянии тех обменных процессов, которые они регулируют. Вследствие этого, выявление отдельных нейропептидов не может достаточно точно определить степень и характер повреждений головного мозга, однако одновременное определение нескольких маркеров представляется диагностически значимым. (Bakay R.A. et al., 1986; Biomarkers Definitions Working Group, 2001; Ingebrigtsen T. et al., 2002; Svetlov S. et al., 2009; Sahu S. et al., 2017).

## **1.6 Профилактика и лечение отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами**

Профилактика отдаленных последствий отравления нейротоксикантами должна базироваться как минимум на двух позициях (Бонитенко Е.Ю. и др., 2010):

- адекватное оказание медицинской помощи в острой фазе интоксикации (значительно снижает проявления энцефалопатии в периоде исходов острых отравлений нейротоксикантами);

- общеукрепляющая и нейропротекторная терапия курсами по 2-3 недели 2-3 раза в течение 6-12 месяцев после острого отравления нейротоксикантами.

По данным литературы, общие принципы терапии отравлений нейротоксикантами заключаются в (Васильев С.А., 2008):

- прекращении дальнейшего поступления и удалении из организма невсосавшегося яда;

- форсированном выведении из организма всосавшегося яда;

- восстановлении и поддержании жизненно важных функций;

- применении специфических противоядий (антидотов);

- патогенетической и симптоматической терапии, органотропных пособиях, восстановлении гомеостаза (Ненастьева А.М. и др., 2015; Поварова О.В. и др., 2015)

Лечение уже сформировавшегося комплекса отдаленных последствий основывается на использовании препаратов различных фармакологических групп, так как необходимо устранить различные нарушения: когнитивные, моторные, сенсорные, соматовегетативные, эмоциональные, морфологические, биохимические и другие (Поварова О.В. и др., 2015). В работе Башарина В.А. показано, что нейропептидные препараты оказывают положительное влияние на клинические проявления интоксикации при экспериментальной терапии в токсикогенную фазу тяжелых отравлений депримирующими соединениями (Башарин В.А., 2011). Применение семакса и препаратов, содержащих дельта-сон

индуцирующий пептид, в ранние сроки интоксикации приводит к более быстрому регрессу неврологических нарушений у отравленных этанолом животных.

Как отмечалось ранее, схемы лечения уже сформировавшегося комплекса отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами, должны включать препараты различных фармакологических групп, такие как антигипоксанты, ноотропы, антиоксиданты, антидепрессанты, нейролептики, нестероидные противовоспалительные препараты, гормоны, модуляторы цитокинов, витамины, блокаторы кальциевых каналов, модуляторы нейромедиаторных систем, стимуляторы синтеза белка, актопротекторы, адаптогены и пр. (Chen Y., 2012; Ахматханова С.М. и др., 2014; Kaur S. et al., 2014; Ненастьева А.М. и др., 2015; Поварова О.В. и др., 2015).

Чаще всего при назначении тех или иных нейропротекторных лекарственных препаратов необходимо ориентироваться на конкретные особенности биологической активности для каждого лекарственного средства (Шабанов П.Д., 2011):

- наличие ноотропного действия (способность повышать устойчивость организма и избирательно ЦНС к действию различных повреждающих факторов при сохранении или повышении высших функций мозга);
- способность препарата оптимизировать метаболическую активность нервных клеток при воздействии повреждающих факторов;
- способность препарата восстанавливать нарушенный метаболизм и компенсировать энергетический дефицит в нервных клетках;
- способность препарата оказывать антиоксидантный эффект;
- способность препарата прямо активировать нейротрофические процессы за счет выработки нейротрофических факторов;
- способность препарата препятствовать развитию нейрональной дегенерации вследствие различных патологических процессов (аутоиммунных, токсических, возрастных, ускоренного апоптоза).

Принцип лечения больных с последствиями поражения ЦНС после отравлений нейротоксикантами заключается в комплексном использовании

средств патогенетической и симптоматической медикаментозной терапии (Трошин В.В., 2010).

Основные механизмы действия средств патогенетической терапии:

- модуляция активности процессов нервной и гуморальной регуляции;
- предотвращение последствий нарушения биоэнергетики на клеточно-тканевом уровне;
- нормализация проницаемости гистогематического барьера;
- прерывание каскада биохимических нарушений.

В настоящее время за рубежом в качестве противосудорожного препарата «первой линии» всё более широкое применение находит имидазольное производное бензодиазепина – мидазолам, а в качестве средств «второй линии» барбитураты и анестетик пропофол (Chen H.Y. et al., 2016). Установлено, что использование комбинации препаратов «Инозин + Никотинамид + Рибофлавин + Янтарная кислота» положительно влияет на параметры неврологического статуса: снижает выраженность астенического синдрома, улучшает когнитивно-мнестические функции, устраняет расстройства в эмоциональной сфере (Батоцыренова Х.В. и др., 2012). Из числа официальных лекарственных препаратов, выпускаемых в Российской Федерации, в позднем периоде соматогенной стадии острых отравлений судорожными агентами целесообразно использование дипептидного препарата – этиловый эфир N-фенилацетил-L-пропилглицина (Кравченко Е.В. и др., 2009). При отравлении барбитуратами чаще всего рекомендуют применять сульфат натрия (Чекман И.С. и др., 2018). Широко используемый при лечении острых отравлений сукцинат, по данным литературы, способен активизировать митохондриальные процессы, с чем и связывают его антигипоксантное действие (Лужников Е.А., 1982). Известны примеры антиоксидантного действия янтарной кислоты и ее производных (Кондрашова М.Н., 2002). Лечение проводится курсами каждые 6 месяцев, при этом смена подобранных лекарств нежелательна. Необходимо учитывать фармакокинетические параметры применяемых препаратов и возможность развития осложнений при их взаимодействии (Белоусов Ю.Б. и др., 2004). Всем

больным, независимо от степени тяжести поражения ЦНС, назначается базисная терапия, включающая препараты из вышеперечисленных групп патогенетических средств. Выбор конкретного лекарственного средства зависит от характера преобладающего симптомокомплекса.

В связи с этим одной из задач данного раздела исследования являлся выбор перспективных фармакологических веществ с целью дальнейшей разработки средств для коррекции и лечения последствий поражения ЦНС различными нейротоксикантами. Выбор был проведен на основе литературных данных, а также результатов собственных ранее проведенных исследований.

### **1.7 Заключение**

Таким образом, несмотря на большую значимость проблемы отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами, в последние годы большинство публикаций было посвящено лишь острым проявлениям интоксикации. Вопрос патологических изменений и их фармакологической коррекции в отдаленном периоде остается изученным недостаточно. В процессе экспериментального моделирования большое значение имеет оценка метаболизма, морфометрических, биохимических, гистохимических изменений в различных отделах головного мозга с выявлением локализации патологического процесса. Показана необходимость комплексного исследования отдаленных последствий поражений ЦНС после острых отравлений нейротоксикантами с последующим определением перспективных направлений создания нейротропных лекарственных средств, способных ослаблять или устранять выявляемые нарушения.

Исследования в области изучения механизмов поражений ЦНС в отдаленном периоде после острого отравления дают возможность уточнить звенья патогенеза данного процесса и совершенствовать методы терапии вышеназванных нарушений позволят обоснованно проводить их фармакологическую коррекцию.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моделирование отдаленных последствий поражения нейротоксикантами с целью фармакологической профилактики, коррекции и разработки методов оценки их эффективности является на сегодняшний день актуальной проблемой.

Анализ, проведенный в обзоре литературы, позволил предположить, что изменения состояния антиоксидантной системы, активности ферментов энергетического обмена, биохимических маркеров нейротоксичности и когнитивных функций животных могут быть связаны с реализацией цитотоксических и непосредственно нейротоксических эффектов действия отравляющих веществ.

Указанные положения были проверены в экспериментальной части работы:

- на первом этапе изучалось влияние отдаленных последствий острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом на состояние антиоксидантной системы и ПОЛ в тканях головного мозга и гемолизате эритроцитов, активность ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга, концентрацию биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных, а также исследовались когнитивные и поведенческие функции в тестах «открытое поле» и «условная реакция пассивного избегания» в отдаленном периоде (1 и 3 месяца);
- на втором этапе проводилась фармакологическая коррекция выявленных нарушений препаратами цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты, сукциноильного аналога мелатонина и белка теплового шока БТШ 70.

### 2.1 Выбор и содержание животных

Экспериментальные исследования выполнены на 314 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г из питомника «Рапполово». Животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики»).

Выбор животных для экспериментов определялся следующими факторами:

1. Крысы являются стандартным объектом в биологических исследованиях.
2. Обладают сопоставимой с другими видами лабораторных животных и человеком чувствительностью к действию факторов химической природы и фармакологических препаратов.
3. Относительно низкой стоимостью этих животных.

Длительность карантина (акклиматизационного периода) для животных составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации (Altman D.G. et al., 1999; Кашуро В.А., 2003). Животные, не соответствующие критериям, были исключены из исследования в течение карантина. Для маркировки животных применяли спиртовой раствор пикриновой кислоты.

Кормление осуществлялось в первой половине дня при свободном доступе к воде. Уход за животными и их кормление обеспечивали штатные сотрудники вивария.

## **2.2 Моделирование последствий острого отравления нейротоксикантами и их фармакологическая коррекция**

Моделировались последствия острого отравления нейротоксикантами путем однократного введения тиопентала натрия (модель комы) в дозе 85 мг/кг массы животного внутривенно (Башарин В.А., 2001) и фенилкарбамата (модель судорог) в дозе 1 мг/кг массы животного (судорожная доза, способная вызывать судорожный синдром с минимальным процентом смертности) (Мелехова А.С. и др., 2018). Контрольным животным в те же сроки внутривенно вводили физиологический раствор в дозе 1 мл/кг массы. Для отбора биологического



материала выживших животных выводили из эксперимента путем декапитации под наркозом через 1 и 3 месяца после введения нейротоксикантов.

На первом этапе эксперимента животные были разделены на 3 группы для каждой временной точки: первая контрольная группа по 10 животных, две экспериментальные группы (отравленные тиопенталом натрия – первая экспериментальная группа и фенилкарбаматом – вторая экспериментальная группа) по 20 животных. Первой экспериментальной группе вводился тиопентал натрия в дозе 85 мг/кг массы тела животного однократно, внутривенно. Второй экспериментальной группе вводился фенилкарбамат в дозе 1 мг/кг массы тела животного однократно, внутривенно.

На втором этапе эксперимента животные были разделены на 3 группы для каждой временной точки: первая контрольная группа по 6 животных, две экспериментальные группы (отравленные тиопенталом натрия и фенилкарбаматом – группы без фармакоррекции) по 48 животных в каждой. После введения токсикантов на следующий день выжившие животные из экспериментальных групп были разделены еще на 4 группы по 6 животных в каждой: группу без коррекции и 3 опытные группы, которые получали препараты фармакологической коррекции. В качестве препаратов фармакологической коррекции опытным группам вводился цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты (1-н-бутил-5-гидроксииминогексагидропиримидин-2,4,6-трионата цинка ацетат дигидрат – KZ-03), сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота – KSE-02), белок теплового шока 70 (БТШ 70). Препараты фармакологической коррекции вводились в течение 2х недель: KZ-03 в дозе 50 мг/кг (не более 0,02 от LD50) (Бурбелло А.Т., 1991), перорально 1 раз в 2 дня, KSE-02 в дозе 2 мг/кг (от 1 мелатониновой концентрации до 10) (Мендель В.Э. и др., 2010), интраназально 1 раз в сутки, БТШ 70 в дозе 50 мкг/кг (рекомендация ИМБ РАН) интраназально 1 раз в 2 дня. KZ-03 и KSE-02 синтезированы в лаборатории медицинских проблем химической безопасности ФГБУН ИТ ФМБА России группой сотрудников под руководством ведущего научного сотрудника к.б.н. Краснова К.А. Препарат

БТШ 70 получен из ФГБУН Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН).

Через 1 и 3 месяца после отравления указанными нейротоксикантами в крови определяли состояние антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов, в тканях головного мозга определяли состояние антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов и активность ферментов энергетического обмена, в сыворотке крови определяли концентрацию нейротрофических маркеров, а также поведенческие и когнитивные функции в тестах «открытое поле» и УРПИ.

### **2.3 Препараты фармакологической коррекции**

Цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты (1-н-бутил-5-гидроксииминогексагидропиримидин-2,4,6-трионата цинка ацетат дигидрат)

По своей эффективности виолуровая кислота превосходит действие метиленового синего и известных антиоксидантов: унитиола, токоферола и аскорбиновой кислоты, а также виолуровая кислота и ее производные являются активными антигипоксантами, по эффективности превосходя препарат амтизол (Бурбелло А.Т., 1991; Ашкинази Р.И., 1998). Введение виолуровой кислоты при гипобарической гипоксии увеличивало время жизни мышей в 2-3 раза, при гиперкапнической – в 1,3-1,6 раза, а при гемической гипоксии, вызванной абсолютно смертельной дозой нитрита натрия, все животные выживали (Бурбелло А.Т., 1991). Оказывает антигипоксантное, антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие, нормализует ионный и кислотно-основной баланс крови, повышает сродство гемоглобина к кислороду при остром отравлении нитросоединениями. Было доказано антидепрессантное, транквилизирующее и стрессопротективное действие (Бурбелло А.Т., 1991). Также было показано, что виолуровая кислота и ее производные обладают нейропротекторными свойствами, противовоспалительной и другими видами активности (Ашкинази Р.И., 1998).

Сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота)

Сукциноильное производное мелатонина – соединение мелатонина с янтарной кислотой. Мелатонин и его аналоги оказывают антиоксидантное, антиканцерогенное, антиатеросклеротическое и нейропротекторное действие (Комаров Ф.И., 1989; Von Gall C. et al., 2002). Искусственно полученный мелатонин достаточно подробно исследован в качестве фармакологического агента. У людей введение мелатонина в течение 1 месяца до 6 г ежедневно не вызывало побочных эффектов, кроме спазмов у отдельных испытуемых (Комаров и др., 2004). Это малотоксичное соединение с LD50 выше 800 мг/кг для лабораторных животных. Парентерально введенный мелатонин легко проникает через гематоэнцефалический барьер, быстро накапливается в ликворе и мозговой ткани. Принятые терапевтические дозы мелатонина в составе лекарственных препаратов и БАД составляют 3-6 мг. Большинство клинических исследований в мире проведено с использованием этих дозировок (Мендель В.Э. и др., 2010). Он увеличивает концентрацию  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в ЦНС и серотонина в среднем мозге и гипоталамусе, изменяет активность пиридоксалькиназы, участвующей в синтезе ГАМК, дофамина и серотонина (Von Gall C. et al., 2002). Адаптирует организм к быстрой смене часовых поясов, снижает стрессовые реакции, регулирует нейроэндокринные функции, является нейропротектором. Имеет иммуностимулирующие и антиоксидантные свойства, предупреждает развитие атеросклероза и новообразований (Мендель В.Э. и др., 2010). Однако сам мелатонин при пероральном приеме обладает весьма низкой биодоступностью (Webley G.E. et al., 1988). Янтарная кислота в лекарственных препаратах используется в качестве активного вещества как метаболическое средство, улучшающее метаболизм и энергообеспечение тканей, уменьшающее гипоксию тканей. Таким образом, данный синтезированный комплекс обладает всеми перечисленными свойствами и высокой биодоступностью.

## Белок теплового шока (БТШ 70)

Белки теплового шока являются внутриклеточными протеинами, обладающими обслуживающими и протективными функциями по отношению к другим протеинам, функционирующим в клетках, обладает нейропротекторной активностью (Андреева Л.И., 2002). Внеклеточные и связанные с плазматической мембраной белки теплового шока, и особенно Hsp 70, участвуют в связывании и презентации антигенов. Принимают участие в сворачивании и разворачивании белков, обеспечивают клетке нечувствительность к нагреванию. Предотвращают сворачивание белков в ходе посттрансляционного транспорта в митохондриях и хлоропласты (Nishikawa M. et al., 2008). Использование препаратов БТШ в экспериментальных моделях позволяет направленно и эффективно усиливать иммунный ответ на опухолевые антигены и различные патогены, или наоборот, подавлять нежелательные аутоиммунные реакции. Существуют также данные о выраженных иммунных реакциях на БТШ, представленных на поверхности инфицированных и опухолевых клеток. Хорошо известно, что многие БТШ являются протективными молекулами и способны предотвращать апоптоз и поддерживать целостность клеток, обладают антиоксидантной активностью (Vigh L. et al., 1997; Андреева Л.И., 2002) В середине 1980-х годов появились публикации о роли БТШ 70 как важного цитопротекторного фактора при ишемических и реперфузионных повреждениях и о его двойственной не до конца выясненной роли при инфекционных заболеваниях, токсических отравлениях, лучевой болезни, ревматоидном артрите (Welch W.J., 1990). БТШ 70 принимает непосредственное участие в возникновении и поддержании в организме аутоиммунных реакций. БТШ 70 образует комплексы со специфическими пептидами трансформированных клеток и принимает участие в их представлении на поверхности клеток, что делает опухолевые клетки мишенью для нормальных киллеров. С другой стороны, увеличение экспрессии БТШ 70 в трансформированных клетках может повышать их устойчивость к действию цитотоксической терапии. Часто опухолевые клетки обладают повышенным уровнем БТШ 70, что затрудняет их уничтожение. Установлено, что повреждения

тканей, возникающие в результате операций, травм или болезней, вызывают индукцию белков теплового шока (Андреева Л.И., 2002). Защитные свойства БТШ 70 используют для лечения различных расстройств и состояний: при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе болезнях Паркинсона, Альцгеймера, хорее Гентингтона, боковом амиотрофическом склерозе и эпилепсии (Turturici G. et al., 2011).

В связи с наличием у данных веществ антиоксидантных, антиапоптотических и нейропротекторных свойств, они были выбраны в качестве средств фармакологической коррекции отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами.

#### **2.4 Клинические проявления острого отравления исследуемыми нейротоксикантами**

Клинические проявления острого отравления тиопенталом натрия

Состояние животных при введении нейротоксиканта в полулетальной дозе соответствовало коме глубокой степени. Через 1-5 минут после введения тиопентала натрия в дозе 85 мг/кг массы тела экспериментальные животные принимали боковое положение. Через 10 минут у них фиксировалось отсутствие роговичного, через 15 минут – болевого рефлексов. Через 5 минут отмечались снижение частоты дыхания до 2-4 в минуту и нарушение его ритма. У животных развивалась отчетливая тенденция к брадикардии с максимальным снижением частоты сердечных сокращений (ЧСС) до 36-54 ударов в минуту (уд/мин) через 1-1,5 часа. Выход выживших животных из тиопенталовой комы (восстановление ритма и глубины дыхательных движений, увеличение ЧСС, появление пароксизмов двигательной активности – движения хвоста и конечностей) на фоне сохраняющегося бокового положения отмечался через 6-7 часов.

Клинические проявления острого отравления фенилкарбаматом

Фенилкарбамат вводили белым крысам-самцам внутрибрюшинно однократно в дозе 1 мг/кг массы тела животного. Через 1-5 минут после введения отмечалось беспокойство, атаксия, наблюдалось носовое кровотечение и усиление

срещии слюнных, слезных, бронхиальных желез, одышка, тремор жевательных мышц, а затем генерализованные судороги. В последующем дыхание становилось затрудненным и урежалось (бронхоспазм). Если при этом не наступала асфиксия, то проявления интоксикации уменьшались, а спустя 10-16 часов координация движений улучшалась, саливация и слезотечение прекращались. Выход выживших животных из данного состояния отмечался через 24-72 часа.

## **2.5 Получение биологического материала и методики исследования**

Для проведения биохимических исследований использовали плазму крови, сыворотку крови, гемолизат эритроцитов и гомогенат тканей головного мозга. После декапитации животных забор крови для биохимических исследований производили в пластиковые пробирки для забора крови Vacuette (Австрия), содержащие ЭДТА. Кровь отстаивали в течение 30 минут при температуре +4°C, а затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. После центрифугирования плазму отбирали пипеткой в пробирки типа «Эппендорф» для дальнейшего биохимического исследования. После того производили отмывку эритроцитов – заливали оставшийся осадок физиологическим раствором из расчета 1:2, затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут, далее сливали физиологический раствор. Повторяли процедуру три раза. Затем из отмытых эритроцитов делали разведение 1:9 на гемолизирующем буфере (трис 0,5мМ рН 7,6) и немедленно использовали для определения концентрации восстановленного глутатиона. Для определения концентрации гемоглобина, активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на биохимическом анализаторе «А-25», а также концентрации малонового диальдегида, диеновых конъюгат и активности глутатион-S-трансферазы готовили разведение 1:19 также на гемолизирующем буфере. Из отмытых эритроцитов готовили гемолизаты соответствующим для каждой методики образом.

В гемолизате эритроцитов определяли показатели системы антиоксидантной защиты на основе исследования уровня низкомолекулярных

(восстановленный глутатион) сульфгидрильных групп, а также активности некоторых ферментов указанной биохимической системы и сопряженных с ней систем:

– супероксиддисмутазы – первой линии защиты от активных форм кислорода и, в частности, супероксидного радикала;

– глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов: глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы;

– ключевого фермента пентозофосфатного шунта и основного поставщика кофермента глутатион-редуктазной реакции никотинамид- $\beta$ -аденин динуклеотид фосфата (НАДФ·Н) – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы;

– глутатионредуктазы, фермента, восстанавливающего дисульфидную связь окисленного глутатиона до его сульфгидрильной формы.

Для оценки возможной роли активации процессов перекисного окисления липидов в патогенезе отдаленных поражений ЦНС в исследуемых гемолизатах определяли концентрации первичных и вторичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгат и малонового диальдегида.

Концентрацию исследуемых субстратов и активность ферментов в гемолизате пересчитывали на 1 грамм гемоглобина.

Для приготовления гомогената извлеченный головной мозг отмывали от крови холодным физиологическим раствором в течение 35-50 секунд после декапитации и замораживали в морозильной камере при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Образцы проб хранились до момента исследования в морозильной камере при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Головной мозг перед исследованием взвешивали, измельчали и гомогенизировали в микроизмельчителе тканей POLYTRON PT-1200E (Швейцария) с механическим гомогенизатором, далее центрифугировали при 3000 об/мин, добавляя охлажденный до температуры  $0^{\circ}\text{C}$ , 0,1 М калий фосфатный буфер с рН 7,4 в соотношении «ткань:буфер – 1:9». Время от момента размораживания тканей до отбора проб гомогенатов и осаждения в них белка кислотами составляло не более 1 минуты. Из полученного гомогената отбирали пробы для определения концентрации восстановленного глутатиона, малонового

диальдегида и диеновых конъюгат. Для определения активности глутатион-S-трансферазы, а также концентрации общего белка, активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы использовали очищенную цитоплазматическую фракцию – полученный гомогенат отбирали пипеткой в пробирки типа «Эппендорф», далее центрифугировали при 20000 об/мин в течение 1 часа на ультрацентрифуге L8-M («Beckman», США). Полученный супернатант использовали для определения активности исследуемых ферментов.

Концентрацию исследуемых субстратов и активность ферментов в гомогенате пересчитывали на 1 грамм белка.

Концентрацию восстановленного глутатиона в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли с использованием 5,5 дитио-бис (-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G.L. Ellman (Ellman G.L., 1959) в нашей модификации, заключающейся в осаждении белка 20% раствором сульфосалициловой кислоты. Принцип метода основан на образовании при взаимодействии ДТНБ (реактива Элмана) с кислоторастворимыми тиоловыми группами окрашенного продукта – тио-2-нитробензойной кислоты, имеющего максимум поглощения на длине волны 412 нм. Рассчитывали концентрацию восстановленного глутатиона и выражали в мкмоль/г Нв (или г белка).

Концентрацию МДА в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли по методу M. Uchiyama (Uchiyama M., 1978). В кислой среде при высокой температуре происходит взаимодействие МДА и тиобарбитуровой кислоты (ТБК) с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеющего максимум поглощения на длине волны 532 нм. Концентрацию ТБК – продуктов рассчитывали согласно методике В. Б. Гаврилова (Гаврилов В.Б. и др., 1987.) по разнице оптических плотностей  $E_{535-580}$  с учетом разведения и коэффициента пересчета ( $K=1,88 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) и выражали в нмоль/г Нв (или г белка).

Определение концентрации ДК в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов осуществляли по методике И.Д. Стальной (1977)



(Стальная И.Д., 1977). Принцип метода основан на экстракции ДК из исследуемого материала и измерении их концентрации по характерному спектру поглощения с максимумом при длине волны 233 нм. Концентрацию ДК рассчитывали с учетом разведения с использованием молярного коэффициента светопоглощения на указанной длине волны ( $K=2,2 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) и выражали в нмоль/г Hb (или г белка).

Определение активности глутатион-S-трансферазы в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов проводили по методу W.H. Habig и W.B. Jakoby (Habig W.H., Jakoby W.B., 1981). Принцип метода основан на взаимодействии восстановленного глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии глутатион трансферазы с образованием продукта, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 340 нм. Расчет производили с учетом коэффициента молярной экстинкции образующегося продукта  $9,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , степени разведения, времени инкубации. Результаты выражают в мкмоль/минута-1  $\times$  г Hb (или г белка).

Концентрацию гемоглобина, общего белка, активность ферментов супероксиддисмутазы, глутатион пероксидазы, глутатион редуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли на биохимическом анализаторе «А-25». Для определения активности ферментов антиоксидантной системы использовались наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания) (общий белок) и фирмы RanDox (Великобритания) (глутатион редуктаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, гемоглобин).

Активность лактатдегидрогеназы и креатинкиназы в гомогенате тканей головного мозга определяли на биохимическом анализаторе «А-25». Для определения активности ферментов энергетического обмена использовались наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания) (лактатдегидрогеназа и креатинкиназа).

Биохимические маркеры нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных определялись методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов ELISA Kit фирмы Cloud-Clone Corp. (США) for

Enolase, Neuron Specific – нейронспецифическая енолаза (NSE), for Myelin Basic Protein – основной белок миелина (MBP), for S100 Calcium Binding Protein – кальций связывающий белок (S100), for Brain Derived Neurotrophic Factor – нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), for Pigment Epithelium Derived Factor – пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), for Glial Fibrillary Acidic Protein – глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) и for Melatonin – мелатонин (MT).

Для исследования функций высшей нервной деятельности использовались тесты «Открытое поле» и «Условная реакция пассивного избегания».

Установка «Открытое поле» – освещенная квадратная камеры для животных, с прозрачными пластмассовыми боковыми стенками, дном и крышкой (50×50×50). Характер и количество движений отмечалось регистратором (ИК-лучи), а полученные данные обрабатывались с помощью программного обеспечения к данной установке. Крысу выпускали в правый угол поля и в течение 3-х минут регистрировали горизонтальную и вертикальную активность, груминг, скорость перемещения животных и расстояние, общую двигательную активность, количество движений в центре площадки и на периферии.

Обучение животных проводится в двухкамерной установке PACS-30 (Columbus Instruments, США) состоящей из затемненного и освещенного отсеков, соединенных дверцей. Используется ток силой 1 мА, который предъявляется в течение 3-х секунд, однократно.

Эксперимент состоит из 3-х стадий:

1) Исследование норки («норковый рефлекс») – крысу помещают в светлый отсек (хвостом к дверце). Время перехода животного из светлого в темный отсек регистрируется как латентный период первого захода.

2) Обучение – при переходе в темный отсек животное там получает болевое электрокожное раздражение через электродный пол.

3) Воспроизведение – через 2 часа и 24 часа после обучения крысу помещают в светлый отсек. В течение 2-х минут регистрируют следующие параметры: количество обученных крыс (не зашедших в темную камеру на

протяжении 2-х минут) в процентах от общего количества животных, и латентный период первого захода через 12 и 24 часа после обучения.

## **2.4 Статистическая обработка результатов**

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel с добавлением пакета AtteStat. Вычисляли средние значения и ошибки среднего ( $M \pm m$ ), оценку достоверности различий средних данных проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни при уровне значимости 0,05.

### **ГЛАВА 3. КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ НЕЙРОТОКСИКАНТАМИ**

При изучении литературных данных была определена первостепенная роль антиоксидантной системы и, в частности, системы глутатиона в поддержании клеточного гомеостаза. Была показана ее цитопротекторная роль в антирадикальной защите. Наиболее подробно представлены данные о повреждающем действии нейротоксикантов в острый период после отравления (Глушков С.И. и др., 2002). Однако недостаточно исследованы отдаленные последствия острых интоксикаций. Отсутствуют данные о комплексном исследовании изменений системы глутатиона в отдаленном периоде после однократного острого отравления нейротоксикантами в различных тканях и анализ полученных результатов.

Структурно-функциональные нарушения на клеточном и субклеточном уровнях, которые лежат в основе патогенеза многих заболеваний, возникают из-за накопления свободных радикалов и последующего снижения антиоксидантного статуса. Таким образом, комплексная оценка состояния антиоксидантной системы и активности перекисного окисления липидов может дать первичное представление о свободнорадикальном гомеостазе на фоне того или иного воздействия. Также необходимо оценить энергетический статус клетки – исследовать активность ферментов энергетического обмена. Изучение отдаленных последствий острого отравления нейротоксикантами требует исследования маркеров разрушения и маркеров естественной защитной реакции клеток тканей мозга – нейроспецифических белков, таких, как нейронспецифическая енолаза, основной белок миелина, нейротрофический фактор головного мозга и пигментный фактор эпителиального происхождения, изучение содержания которых также позволяют оценивать степень воздействия и повреждения нервной ткани. Интегральными показателями состояния

центральной нервной системы являются поведенческие и когнитивные функции, которые оценивались с помощью тестов «открытое поле» и «условная реакция пассивного избегания».

Поэтому целью данного раздела исследования явилось комплексное изучение изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов, активности ферментов энергетического обмена, нейроспецифических факторов и поведенческих изменений в отдаленном периоде после острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

На первом этапе эксперимента животные были разделены на 3 группы для каждой временной точки: первая контрольная группа по 10 животных, две экспериментальные группы (отравленные тиопенталом натрия – экспериментальная группа №1 и фенилкарбаматом – экспериментальная группа №2) по 20 животных. Экспериментальной группе №1 вводился тиопентал натрия в дозе 85 мг/кг массы тела животного однократно, внутривентриально. Экспериментальной группе №2 вводился фенилкарбамат в дозе 1 мг/кг массы тела животного однократно, внутривентриально. Через 1 и 3 месяца после введения токсикантов выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для отбора биологического материала.

В гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга изучалось изменение ферментативного звена антирадикальной защиты: концентрации восстановленного глутатиона, активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, супероксиддисмутазы, и показателей перекисного окисления липидов – концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгат. В тканях головного мозга определялась также активность ферментов энергетического обмена – лактатдегидрогеназы и креатинкиназы. Исследовались изменения концентрации нейротрофических маркеров, таких, как основной белок миелина, нейротрофический фактор головного мозга, пигментный фактор эпителиального происхождения и нейронспецифическая енолаза в сыворотке крови лабораторных животных.

Поведение лабораторных животных оценивалось в тесте «открытое поле», когнитивные функции – в тесте «условная реакция пассивного избегания».

### **3.1 Изучение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

В результате проведенного экспериментального исследования через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом наблюдались выраженные изменения изучаемых показателей, свидетельствующие о значительной роли антиоксидантной системы в поддержании их гомеостаза и патогенезе последствий тяжелых отравлений нейротоксикантами.

В таблице 1 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

В результате проведенного исследования было определено, что через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в группе экспериментальных животных наблюдалось увеличение содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгат на 57,8% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем. Это указывает на активацию процессов перекисного окисления липидов, которые могут являться патогенетическим звеном развития последствий острого отравления нейротоксикантами. Также наблюдалось снижение активности ферментативного звена антирадикальной защиты: уменьшение активности глутатион-S-трансферазы на 12,9% ( $p < 0,05$ ) и достоверное снижение активности супероксиддисмутазы на 19,3% в сравнении с контрольной группой.

Через 1 месяц после однократного острого отравления фенилкарбаматом наблюдалось достоверное увеличение содержания диеновых конъюгат на 34,2% в сравнении с контрольной группой лабораторных животных. Концентрация

восстановленного глутатиона достоверно снижались на 45,5% в сравнении с контрольной группой, что указывает на усиленную трансформацию его в дисульфид и является признаком дисбаланса между про- и антиоксидантной системами. Также снижалась активность глутатион-S-трансферазы в данной группе экспериментальных животных (на 38,0%,  $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем. Полученные данные свидетельствуют о снижении активности системы антирадикальной защиты.

Таблица 1 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели ( $M \pm m$ )	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	19,3±0,6	20,1±1,3	10,5±0,6*
МДА, нмоль/г гемоглобина	19,3±1,0	19,5±1,2	20,8±0,9
ДК, нмоль/г гемоглобина	3,8±0,3	6,0±0,3*	5,1±0,3*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	3138,1±183,7	2532,6±206,9*	3141,3±239,6
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	211,4±5,2	184,0±12,3*	131,0±8,0*
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	38,5±0,9	37,5±1,0	44,3±5,3
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	15,1±1,0	12,4±1,2	12,4±1,5
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

В таблице 2 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

Через 3 месяца после острой интоксикации тиопенталом натрия было выявлено, что концентрация диеновых конъюгат оставалась на достаточно высоком уровне: наблюдалось достоверное увеличение на 45,4% в сравнении с контрольной группой. Концентрация восстановленного глутатиона достоверно

снижалась на 26,4% в сравнении с контрольной группой. Через 3 месяца после введения тиопентала натрия активность глутатионпероксидазы, которая инактивирует липидные гидроперекисные соединения и сохраняет целостность клеточных и внутриклеточных мембран, достоверно увеличивалась на 8,5% в сравнении с контролем. Также наблюдалось значимое снижение активности глутатион-S-трансферазы на 38,0% в группе экспериментальных животных в сравнении с контрольной группой.

Таблица 2 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	12,5±1,2	9,2±0,2*	9,6±1,2*
МДА, нмоль/г гемоглобина	12,1±0,2	13,4±0,6	12,8±0,5
ДК, нмоль/г гемоглобина	3,3±0,1	4,8±0,3*	4,4±0,2*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	2362,1±127,3	2377,1±212,9	2706,2±269,7
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	188,2±6,5	116,5±10,2*	103,0±8,4*
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	32,9±0,6	35,7±0,8*	33,9±1,9
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	18,2±0,9	19,4±0,7	18,4±1,7
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

При изучении изменения этих показателей через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом выявлено, что концентрация диеновых конъюгат достоверно увеличивалась на 33,3% в сравнении с контрольной группой. Достоверно снижались концентрация восстановленного глутатиона на 23,2% и активность глутатион-S-трансферазы на 45,2% в сравнении с контрольной группой лабораторных животных.

Таким образом, исследование показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов после острых отравлений тиопенталом натрия и



фенилкарбаматом в отдаленном периоде показали нарушение гомеостаза антиоксидантной системы, которое проявилось в дисбалансе её ферментативного звена и увеличении образования продуктов перекисного окисления липидов.

### **3.2 Изучение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Полученные результаты исследований показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга животных после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом через 1 месяц после интоксикации представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	1,87±0,15	1,84±0,10	1,89±0,14
МДА, нмоль/г гемоглобина	194,5±4,1	230,8±7,5*	224,7±6,9*
ДК, нмоль/г гемоглобина	108,2±1,0	111,3±0,9*	113,8±1,6*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	73,1±4,3	67,8±4,3	71,3±4,4
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	356,1±5,9	300,5±6,9*	284,2±10,3*
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	2,03±0,07	2,18±0,04	2,55±0,07*
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	48,9±3,0	54,7±3,6	48,7±1,9
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

При исследовании показателей антиоксидантной системы через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия наблюдалось достоверное увеличение концентрации диеновых конъюгат на 2,8% и малонового диальдегида на 18,6% в сравнении с контрольной группой крыс. Эти данные свидетельствуют о накоплении продуктов перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот в тканях головного мозга вследствие усиления процессов липопероксидации и снижения скорости инактивации активных форм кислорода. Также наблюдалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 15,6% в сравнении с показателями контроля.

В группе экспериментальных животных через 1 месяц после отравления фенилкарбаматом концентрация диеновых конъюгат увеличивалась на 5,1% в сравнении с контрольной группой, а концентрация малонового диальдегида – на 15,5% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с соответствующими показателями контрольной группы. Наблюдалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 20,2% в сравнении с показателями контрольной группы лабораторных животных. Активность глутатионпероксидазы увеличивалась на 25,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с показателями контрольной группы животных.

В таблице 4 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

В результате проведенного исследования в опытной группе экспериментальных животных через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия отмечался достоверный рост концентрации диеновых конъюгат на 6,1% и малонового диальдегида – на 32,5% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем. При исследовании активности ферментов антиоксидантной системы отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 25,7% и увеличение активности глутатионпероксидазы на 32,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой животных.

Таблица 4 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	1,98±0,13	1,72±0,12	1,58±0,13*
МДА, нмоль/г гемоглобина	159,4±4,8	211,2±7,3*	198,9±5,9*
ДК, нмоль/г гемоглобина	111,5±2,4	118,4±1,3*	119,7±2,4*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	62,7±7,3	66,4±5,1	64,5±3,7
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	339,4±5,5	252,2±8,1*	289,4±7,7*
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	2,33±0,12	3,09±0,09*	3,27±0,10*
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	49,9±1,8	46,1±1,5	46,2±1,9
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом в группе экспериментальных животных концентрация диеновых конъюгат увеличивалась на 7,3% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой крыс (таблица 4). Концентрация малонового диальдегида достоверно увеличивалась на 24,7% в сравнении с контрольной группой. Выявлено достоверное снижение концентрации восстановленного глутатиона на 20,2% в сравнении с показателями контрольной группы. В группе после отравления фенилкарбаматом наблюдалось снижение активности глутатион-S-трансферазы на 14,7% ( $p < 0,05$ ) и значимое увеличение активности глутатионпероксидазы на 40,3% в сравнении с контрольной группой крыс.

Таким образом, через 3 месяца после острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом сохраняется дисбаланс гомеостаза антиоксидантной системы, однако он менее выражен, чем через 1 месяц.

### 3.3 Изучение активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Результаты исследований активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга животных через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	251,4±6,5	283,6±6,2*	272,3±7,0*
ЛДГ, Ед. акт./г белка	20,0±0,4	23,4±0,4*	25,0±0,8*
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

При исследовании активности ферментов энергетического обмена через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 12,8% в сравнении с показателями контрольной группы. Также отмечался достоверный рост активности лактатдегидрогеназы на 17,0% в сравнении с контрольной группой.

При исследовании активности ферментов энергетического обмена через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 8,3% в сравнении с показателями контрольной группы лабораторных животных. Отмечался достоверный рост активности лактатдегидрогеназы на 25,0% в сравнении с контрольной группой.

В таблице 6 представлены результаты исследований активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

Таблица 6 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	273,1±7,2	375,5±10,1*	402,1±14,8*
ЛДГ, Ед.акт./г белка	19,5±1,9	30,3±2,6*	37,6±4,9*
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

В результате исследований активности ферментов энергетического обмена через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 37,5% в опытной группе экспериментальных животных в сравнении с показателями контрольной группы. Также отмечался достоверный рост активности лактатдегидрогеназы на 55,3% в сравнении с контрольной группой лабораторных животных.

При исследовании активности ферментов энергетического обмена через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом было выявлено увеличение активности креатинкиназы на 47,2% в сравнении с показателями контрольной группы. Отмечался достоверный рост активности лактатдегидрогеназы после интоксикации фенилкарбаматом на 92,8% в сравнении с контрольной группой. Таким образом, проведенное исследование показало, что нарушение энергетического обмена в тканях головного мозга через 1 и 3 месяца, которое проявлялось в увеличении активности ферментов энергетического обмена, может свидетельствовать об активации процессов гликолиза из-за энергетического дисбаланса.

### 3.4 Изучение изменений концентрации биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

В результате проведенных исследований концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови у животных через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом представлены в таблице 7.

В результате исследования показателей нейроспецифических белков у животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия интоксикации зарегистрировано достоверное увеличение в 2,7 раза концентрации основного белка миелина (MBP) – маркера разрушения миелиновых оболочек, снижение концентрации нейронспецифической енолазы на 27,0% ( $p < 0,05$ ) и достоверное увеличение концентрации PEDF на 15,0%, способного предотвращать апоптотическую гибель клеток нейронов под действием перекиси.

Таблица 7 – Изменение концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
NSE, пг/мл	17,04±0,93	12,42±0,83*	12,38±0,39*
MBP, нг/мл	5,50±0,47	15,25±3,12*	7,50±0,45*
BDNF, пг/мл	472,1±44,5	570,3±75,9	525,4±102,1
PEDF, нг/мл	225,3±12,7	259,1±6,0*	269,2±7,2*

Примечание:  
\* – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при  $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)

Через 1 месяц после отравления фенилкарбаматом в опытной группе крыс отмечалось достоверное увеличение концентрации MBP на 36,3%, снижение

концентрации нейронспецифической енолазы на 27,3% ( $p < 0,05$ ) и увеличение концентрация белка PEDF на 19,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с соответствующими показателями контрольной группы. Полученное увеличение концентрации PEDF через 1 месяц после интоксикации свидетельствует о компенсаторной реакции нервных клеток на наличие патологического процесса в тканях центральной нервной системы.

Анализ результатов экспериментального исследования, представленных в таблице 8, выявил уменьшение нарушений гомеостаза нейроспецифических белков через 3 месяца после отравления нейротоксикантами.

Содержание основного белка миелина (MBP) и нейронспецифической енолазы (NSE) не отличалось от контроля. Концентрация нейропротекторных белков (BDNF и PEDF) достоверно не отличалась от контрольной группы.

Таблица 8 – Изменение концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
NSE, пг/мл	13,97±0,81	12,37±0,85	12,63±0,29
MBP, нг/мл	11,41±1,44	15,7±3,55	12,4±0,87
BDNF, пг/мл	363,7±88,7	259,0±41,3	322,8±47,3
PEDF, нг/мл	226,3±26,6	229,1±21,1	234,5±21,1
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

### **3.5 Исследование поведенческой активности и когнитивной функции лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Данный раздел работы проводился совместно с лабораторией психофармакологии (ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России) под руководством старшего научного сотрудника Лисицкого Д.С.

Полученные результаты исследований изменений показателей в тесте «открытого поля» у животных через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Горизонтальные перемещения, число актов	58,3±4,1	42,6±6,0*	49,2±5,7
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	39,2±2,8	28,0±3,3*	31,5±2,4
Груминг, число актов	44,6±5,0	30,8±6,3	43,6±5,9
Среднее пройденное расстояние, м	3,7±0,3	2,6±0,4*	3,0±0,4
Средняя скорость, см/с	3,1±0,3	2,1±0,3*	2,4±0,3
Общая двигательная активность, число актов	97,5±6,6	70,6±9,0*	80,7±7,7
Двигательная активность в центре площадки, число актов	10,1±2,2	4,9±1,4*	7,1±2,0
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	87,4±6,1	65,7±8,0*	73,6±5,9
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

Отмечалось наличие в отдалённом периоде нарушений активно-поискового поведения, а также ориентировочно-исследовательского компонента, что выражалось в достоверном уменьшении значений таких показателей двигательной активности, как количество горизонтальных перемещений, среднее пройденное расстояние, общая двигательная активность и двигательная активность на периферии в сравнении с соответствующей контрольной группой. Также наблюдалось снижение количества вертикальных стоек, которое свидетельствует о снижении исследовательской активности животных.



Через 1 месяц после острого отравления тиопентала натрия выявлено достоверное выраженное снижение всех исследуемых показателей – от 20 до 50% в сравнении с контрольной группой. Так, количество горизонтальных перемещений уменьшилось на 26,9% ( $p < 0,05$ ), а вертикальных – на 28,6% достоверно в сравнении с контрольной группой животных. Среднее пройденное расстояние снизилось на 29,7% ( $p < 0,05$ ), средняя скорость на 32,2% ( $p < 0,05$ ), общая двигательная активность на 27,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой крыс. Также снижались двигательная активность в центре на 51,5% ( $p < 0,05$ ), на периферии на 24,8% достоверно в сравнении с контрольной группой лабораторных животных.

Через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом в тесте «открытое поле» не наблюдалось существенных изменений в двигательной и ориентировочно-исследовательской активности крыс-самцов. Однако прослеживалась сходная с группой после острого отравления тиопенталом натрия тенденция снижения всех исследуемых показателей.

Как показано в таблице 10, изменения в двигательной и ориентировочно-исследовательской активности крыс-самцов во время наблюдения в «открытом поле» в сравнении с контролем через 3 месяца после однократного тяжелого отравления сохранили общую тенденцию к снижению.

Через 3 месяца последствия отравления тиопенталом натрия стали менее выраженными. Наблюдалось достоверное снижение вертикальных стоек на 38,6% и общей двигательной активности на 37,1% в сравнении с контрольной группой.

Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом выявлено достоверное снижение количества горизонтальных перемещений на 46,7%, общая двигательная активность была достоверно снижена на 40,7%, снизилась средняя скорость перемещения на 44,7% ( $p < 0,05$ ) и двигательная активность в центре площадки на 82,4% ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о снижении активно-поисковой и ориентировочно-исследовательской составляющих поведения в отдаленном периоде после интоксикации.

Как показано в таблице 11, при исследовании когнитивных функций через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия наблюдалось снижение относительного количества обученных животных через 2 часа после обучения, в сравнении с контрольной группой на 20%. Данное снижение может говорить о негативных последствиях влияния препарата на центральную нервную систему, процессы консолидации кратковременной памяти и обучение. Также наблюдалось снижение относительного количества обученных животных через 24 часа после обучения в сравнении с контролем на 30%, что свидетельствует о нарушениях процессов долговременной памяти.

Таблица 10 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Горизонтальные перемещения, число актов	30,2±4,9	19,4±4,8	16,1±4,0*
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	29,3±3,4	18,0±2,8*	19,2±4,2
Груминг, число актов	26,3±6,5	17,0±4,8	26,7±8,3
Среднее пройденное расстояние, м	1,50±0,30	1,13±0,34	0,83±0,31
Средняя скорость, см/с	1,23±0,25	0,94±0,28	0,68±0,26*
Общая двигательная активность, число актов	59,5±6,7	37,4±7,5*	35,3±8,1*
Двигательная активность в центре площадки, число актов	7,4±2,8	2,4±0,7	1,3±1,0*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	52,1±5,3	35,0±7,2	34,0±7,3*
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

При исследовании когнитивных функций через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом наблюдалось снижение относительного количества

обученных животных через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой на 30%. Через 24 ч в экспериментальных группах наблюдалась стойкая тенденция к уменьшению времени захода в темную камеру.

Таблица 11 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Латентный период первого захода, с	16,7±2,6	18,2±4,9	16,6±2,9
Латентный период захода через 2 часа, с	118,8±1,2	96,1±12,8	83,5±15,3
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	118,8±1,2	100,6±11,5	86,6±13,9
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	1,2±1,2	19,4±11,5	33,4±13,9
% обученных животных через 2 часа после обучения	90	70	60
Латентный период захода через 24 часа, с	84,1±15,2	52,3±15,8	83,8±16,0
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	84,1±15,2	67,2±15,4	91,8±12,6
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	35,9±15,2	52,8±15,4	28,2±12,6
% обученных животных через 24 часа после обучения	60	30	60
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

Как показано в таблице 12, через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия отмечалось снижение относительного количества обученных животных через 24 часа после обучения в сравнении с контрольной группой на 30%. Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом наблюдалось снижение относительного количества обученных животных через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой на 30%. Также уменьшалось относительное количество обученных животных через 24 часа после обучения на 40% в сравнении с контролем.

Проведенное экспериментальное исследование показало, что после тяжелого однократного отравления нейротоксикантами в отдаленном периоде происходит нарушение высших интегративных функций ЦНС. Данное положение подтверждается снижением ориентировочно-исследовательской и двигательной активности у экспериментальных животных как через 1 месяц, так и через 3 месяца после интоксикации. Нарушение когнитивных функций подтверждено негативным влиянием отравлений на процессы обучения и запоминания.

Таблица 12 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы		
	Контроль (N=10)	ТН (N=10)	ФК (N=10)
Латентный период первого захода, с	69,3±12,3	60,3±16,9	57,2±15,4
Латентный период захода через 2 часа, с	120,0±0,0	111,0±9,0	99,1±14,0
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	120,0±0,0	119,7±0,3	107,8±9,7
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	0,0±0,0	0,3±0,3	12,2±9,7
% обученных животных через 2 часа после обучения	100	90	70
Латентный период захода через 24 часа, с	120,0±0,0	109,5±10,5	89,3±15,7
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	120,0±0,0	100,1±11,6	96,9±13,3
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	0,0±0,0	19,9±11,6	23,1±13,3
% обученных животных через 24 часа после обучения	100	70	60
Примечание: * – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)			

## **ГЛАВА 4. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ НЕЙРОТОКСИКАНТАМИ**

Результаты проведенного экспериментального исследования показали, что в отдаленном периоде после острых отравлений изучаемыми нейротоксикантами наблюдалось наличие дисбаланса между про- и антиоксидантной системами, изменение активности ферментов энергетического обмена, нарушение гомеостаза нейронспецифических факторов и нарушение двигательной, исследовательской, когнитивной функций. В связи с этим в лечении последствий острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом нами предложено использовать препараты фармакологической коррекции, обладающие антиоксидантным, нейропротекторным и адаптогенным действием.

В качестве препаратов для фармакологической коррекции и лечения отдаленных последствий поражения центральной нервной системы после отравления различными нейротоксикантами были выбраны цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты KZ-03, который является антигипоксантом и нейропротектором, сукциноильное производное мелатонина KSE-02, являющееся антиоксидантом и нейропротектором, белок теплового шока БТШ 70, блокирующий апоптоз.

На втором этапе эксперимента животные были разделены на 3 группы для каждой временной точки: первая контрольная группа по 6 животных, две экспериментальные группы (отравленные тиопенталом натрия и фенилкарбаматом – группы без фармкоррекции) по 48 животных в каждой. После введения токсикантов на следующий день выжившие животные из экспериментальных групп были разделены еще на 4 группы по 6 животных в каждой: группу без коррекции и 3 опытные группы, которые получали препараты фармакологической коррекции. В качестве препаратов фармакологической коррекции опытным группам вводился KZ-03 в дозе 50 мг/кг, перорально 1 раз в 2

дня, вводился KSE-02 в дозе 2 мг/кг, интраназально 1 раз в сутки и вводился белок теплового шока (БТШ 70) в дозе 50 мкг/кг интраназально 1 раз в 2 дня. Препараты фармакологической коррекции вводились в течение 2-х недель.

Через 1 и 3 месяца после введения токсикантов выжившие животные были подвергнуты эвтаназии для отбора биологического материала.

На данном этапе исследования изучалось изменение ферментативного звена антирадикальной защиты: концентрации восстановленного глутатиона, активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, супероксиддисмутазы, и показателей перекисного окисления липидов – концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгат в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга. В тканях головного мозга определялась также активность ферментов энергетического обмена – лактатдегидрогеназы и креатинкиназы. Исследовались изменения концентрации нейротрофических маркеров, таких как нейронспецифическая енолаза, основной белок миелина, белок S100, глиальный фибриллярный кислый протеин, нейротрофический фактор головного мозга, пигментный фактор эпителиального происхождения и мелатонин в сыворотке крови лабораторных животных. Поведение лабораторных животных оценивалось в тесте «открытое поле» и когнитивные функции – в тесте «условная реакция пассивного избегания».

#### **4.1 Фармакологическая коррекция изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что в отдаленном периоде после введения тиопентала натрия и фенилкарбамата наблюдаются выраженные изменения исследуемых показателей, которые свидетельствуют об участии системы антиоксидантной защиты в патогенезе последствий острых отравлений нейротоксикантами.

В таблице 13 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции.

Через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия были выявлены значимые повреждения липидов по свободнорадикальному механизму, о чем свидетельствует накопление в гемолизате эритроцитов начальных продуктов перекисного окисления липидов. Так, концентрация диеновых конъюгат через 1 месяц после интоксикации тиопенталом натрия достоверно возросла на 31,0% в сравнении с контрольной группой. Концентрация вторичного продукта – малонового диальдегида также незначительно повышалась в сравнении с контрольной группой животных. Такое течение процесса через 1 месяц после острого отравления характерно для снижения активности системы антиоксидантной защиты. Данное предположение подтверждается снижением концентрации восстановленного глутатиона, играющего ключевую роль в нейтрализации продуктов свободно-радикального окисления на 18,8% в сравнении с контрольной группой, а также активности ферментативного звена антирадикальной защиты через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия. В группе животных без фармкоррекции отмечалось снижение активности глутатион-S-трансферазы на 19,6% и глутатионредуктазы на 31,8% в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Активность других ферментов, принимающих активное участие в инактивации активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов, изменялась незначительно. Применение KZ-03 приводило к снижению в гемолизате эритроцитов содержания продуктов перекисного окисления липидов. В сравнении с группой без фармакологической коррекции концентрация диеновых конъюгат достоверно снижалась на 53,7%, а концентрация малонового диальдегида на 53,7%. У животных данной группы содержание восстановленного глутатиона в сравнении с группой без фармкоррекции было выше на 18,9% ( $p < 0,05$ ).

Таблица 13 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	11,7±0,5	9,5±0,3*	11,3±0,4#	10,7±0,3#	11,2±0,3#
МДА, нмоль/г гемоглобина	19,4±0,5	20,7±1,1	18,0±0,8#	19,3±0,9	17,0±0,8#
ДК, нмоль/г гемоглобина	2,03±0,25	2,66±0,02*	1,23±0,24*#	1,81±0,33#	1,82±0,31#
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	3964,0±333,3	3364,8±196,1	5118,4±209,2*#	4654,7±182,5#	4620,9±158,9#
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	141,4±5,0	113,7±9,3*	133,6±14,3	123,2±9,4	105,6±23,7
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	32,7±1,0	31,7±0,5	34,9±1,0#	32,3±1,7	33,4±1,1
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,54±0,15	1,05±0,14*	1,52±0,20	1,39±0,06	1,13±0,20
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	11,3±1,4	8,4±0,5	10,5±1,2	11,6±0,6#	10,6±0,7#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					



Активность глутатионпероксидазы достоверно возрастала на 10,1% в сравнении с группой без фармкоррекции. Активность супероксиддисмутазы в сравнении с группой без фармкоррекции возрастала на 52,1% ( $p < 0,05$ ). Глутатион-S-трансфераза и глутатионредуктаза практически не изменяли уровень своей активности в сравнении группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверно снижалась концентрация диеновых конъюгат на 39,4% и увеличивалась активность супероксиддисмутазы на 29,1%.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гемолизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 31,9% в сравнении с группой без фармкоррекции. У животных данной группы содержание восстановленного глутатиона в сравнении с группой без фармкоррекции повышалось на 12,6% ( $p < 0,05$ ). Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармкоррекции на 38,1%. Активность супероксиддисмутазы достоверно возрастала на 38,3%. Активность других ферментов антиоксидантной системы – глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы изменялась незначительно. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 вызывало достоверное снижение в гемолизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 31,5% в сравнении с группой без фармкоррекции. Концентрация малонового диальдегида достоверно снижалась на 17,8% в сравнении с группой без фармкоррекции. У животных данной группы содержание восстановленного глутатиона в сравнении с группой без фармкоррекции было выше на 17,9% ( $p < 0,05$ ). Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармкоррекции на 26,2%. Активность супероксиддисмутазы возрастала на 37,3% ( $p < 0,05$ ). Активность остальных ферментов антиоксидантной защиты практически не изменялась в сравнении группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В таблице 14 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в

гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 1 месяц после интоксикации фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции.

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что через 1 месяц после введения фенилкарбамата в дозе 1 мг/кг массы тела наблюдались выраженные изменения показателей системы антиоксидантной защиты, свидетельствующие об ее участии в патогенезе последствий тяжелых отравлений нейротропными веществами судорожного действия.

Через 1 месяц после интоксикации у выживших животных была также выявлена активация свободно-радикального окисления, о чем свидетельствует накопление в гемолизате эритроцитов первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгат. Через 1 месяц после интоксикации фенилкарбаматом концентрация диеновых конъюгат достоверно возросла на 78,2% в сравнении с контрольной группой животных. Концентрация малонового диальдегида повышалась незначительно в сравнении с контрольной группой. Также наблюдалось снижение концентрации восстановленного глутатиона на 13,8% ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой животных. Наблюдалось снижение активности глутатон-S-трансферазы на 18,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой крыс. Активность остальных ферментов, принимающих активное участие в инактивации активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов, незначительно снижалась.

Применение KZ-03 приводило к снижению в гемолизате эритроцитов содержания продуктов перекисного окисления липидов. В сравнении с группой без фармакологической коррекции концентрация диеновых конъюгат достоверно снижалась на 49,6%. Концентрация малонового диальдегида достоверно снижалась на 22,9% в сравнении с группой без фармакоррекции. У животных данной группы содержание восстановленного глутатиона повышалось на 11,8% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой, не получавшей фармакологическую коррекцию. Активность супероксиддисмутазы в сравнении с группой без фармакоррекции возросла на 14,7% ( $p < 0,05$ ).

Таблица 14 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	10,8±0,3	9,3±0,4*	10,4±0,4#	10,0±0,5	9,8±0,5
МДА, нмоль/г гемоглобина	19,9±1,8	22,2±0,7	17,1±2,1#	21,1±0,5	20,9±2,1
ДК, нмоль/г гемоглобина	1,56±0,11	2,78±0,06*	1,40±0,11#	1,21±0,13#	1,20±0,12#
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	3862,6±140,9	3556,8±186,4	4079,3±145,1#	4305,2±114,5#	4298,9±143,8#
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	149,0±3,7	121,5±2,2*	139,0±9,8	138,3±6,7	130,3±12,6
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	32,0±0,8	31,2±0,3	30,5±0,7	32,5±0,4#	30,3±0,6
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,44±0,11	1,46±0,08	1,21±0,17	1,28±0,06	1,40±0,30
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	8,1±0,4	7,4±0,2	7,0±0,5	7,4±0,4	7,2±0,4
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Активность глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы практически не изменялась в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гемолизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 56,4% в сравнении с группой без фармакологической коррекции. У животных данной группы содержание восстановленного глутатиона также повышалось, но и статистически значимо не отличалось от группы без фармакологической коррекции. Активность супероксиддисмутазы в сравнении с группой без фармакоррекции возрастала на 21,0% ( $p < 0,05$ ). Активность глутатионпероксидазы достоверно возрастала на 4,1% в сравнении с группой без фармакологической коррекции. Однако активность глутатион-S-трансферазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы изменялась незначительно. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 вызывало достоверное снижение в гемолизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 56,8% в сравнении с группой без фармакоррекции. Концентрация малонового диальдегида незначительно понижалась в сравнении с группой животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Содержание восстановленного глутатиона повышалось, но статистически значимо не отличалось от группы без фармакологической коррекции. Активность супероксиддисмутазы в сравнении с группой без фармакоррекции возрастала на 20,8% ( $p < 0,05$ ). Активность остальных ферментатов звена антиоксидантной защиты практически не изменялась в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В таблице 15 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции.

Таблица 15 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	10,6±0,3	10,8±0,3	10,9±0,3	10,6±0,3	11,7±0,2*
МДА, нмоль/г гемоглобина	18,3±2,2	19,0±2,3	9,7±0,5*#	10,7±1,2#	13,7±1,7
ДК, нмоль/г гемоглобина	1,50±0,39	2,77±0,23*	1,11±0,07#	1,01±0,06#	1,14±0,07#
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	4964,1±749,6	3129,1±575,0	3577,8±981,6	2275,2±355,1*	3876,8±664,6
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	158,8±4,2	114,9±1,6*	132,8±3,1*#	121,9±3,9*	138,2±5,1*#
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	33,7±1,3	34,9±0,2	34,0±0,8	35,3±0,7	36,4±2,0
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,83±0,12	1,91±0,10	3,10±0,20*#	3,50±0,50*#	2,30±0,40
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	8,8±0,1	7,3±1,0	8,6±0,4	7,8±0,4	9,0±0,6
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Анализ полученных данных показал, что через 3 месяца после острого однократного отравления тиопенталом натрия сохраняются явления нарушения гомеостаза антиоксидантной системы, однако становятся менее выраженными.

Через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия в группе животных без фармакологической коррекции достоверно возростала концентрация диеновых конъюгат на 84,6% в сравнении с контрольной группой. Отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 27,6%. Выявлена отчетливая тенденция снижения активности супероксиддисмутазы.

В группе животных, которым вводился KZ-03, наблюдалось понижение концентрации диеновых конъюгат на 59,9% в сравнении с группой без фармакологической коррекции ( $p < 0,05$ ). Концентрация малонового диальдегида была достоверно ниже на 48,9% в сравнении с группой животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатион-S-трансферазы была статистически значимо выше в сравнении с группой без фармкоррекции на 15,5%, а активность глутатионредуктазы возростала на 62,3% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармакологической коррекции. Изменения остальных исследуемых показателей носили статистически незначимый характер. В сравнении с контрольной группой в данной группе наблюдалось достоверное снижение концентрации малонового диальдегида на 47,0%, а также увеличение активности глутатионредуктазы на 69,4% и снижение активности глутатион-S-трансферазы 16,4%.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гемолизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 63,5% в сравнении с группой без фармкоррекции. Концентрация малонового диальдегида достоверно снижалась на 43,6% в сравнении с группой животных, не получавших препарат. Активность глутатионредуктазы достоверно возростала на 83,2% в сравнении с группой без фармкоррекции. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионпероксидазы практически не изменялась в сравнении с группой без фармакологической коррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе наблюдалось достоверное увеличение активности глутатионредуктазы на

91,3%, значимое снижение активности супероксиддисмутазы и глутатион-S-трансферазы соответственно на 54,2% и 23,2%.

Применение БТШ 70 вызывало достоверное снижение на 58,8% концентрации диеновых конъюгат в сравнении с группой животных, не получавших фармакологическую коррекцию. У животных данной группы активность глутатион-S-трансферазы возрастала на 20,2% в сравнении с группой без фармкоррекции ( $p < 0,05$ ). Активность остальных ферментов антиоксидантной защиты практически не изменялась в сравнении с группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе наблюдалось достоверное увеличение концентрации восстановленного глутатиона на 10,4% и снижение активности глутатион-S-трансферазы на 13,0%.

В таблице 16 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции.

Через 3 месяца после интоксикации фенилкарбаматом в группе животных без фармакологической коррекции достоверно возростала концентрация диеновых конъюгат на 34,9% в сравнении с контрольной группой. Отмечалось достоверное снижение активности супероксиддисмутазы на 43,0% и глутатион-S-трансферазы на 25,2% в сравнении с контрольной группой.

В группе животных, которым вводился KZ-03, наблюдалось понижение концентрации диеновых конъюгат на 42,3% в сравнении с группой без фармакологической коррекции ( $p < 0,05$ ). Концентрация малонового диальдегида достоверно снижалась на 40,6% в сравнении с группой животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатион-S-трансферазы повышалась на 25,2% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармкоррекции. Изменения остальных исследуемых показателей носили статистически недостоверный характер. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 16 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	11,3±0,4	12,1±0,3	11,7±0,3	11,8±0,9	12,3±0,6
МДА, нмоль/г гемоглобина	23,0±2,0	30,3±4,7	18,0±3,4#	21,2±1,0	15,4±1,1#
ДК, нмоль/г гемоглобина	2,09±0,21	3,02±0,02*	1,74±0,03#	1,87±0,10#	1,73±0,03#
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	4144,6±605,2	2359,7±319,2*	2781,1±454,4	2944,8±193,3	2809,0±397,6
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	142,6±8,4	102,9±2,6*	128,9±7,8#	124,3±9,6	125,3±10,1
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	36,3±1,3	34,2±1,1	35,2±0,9	34,5±0,8	34,4±1,8
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,76±0,63	1,86±0,55	3,10±0,60	3,50±1,10	3,30±0,60#
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	10,7±0,4	9,6±0,4	9,2±0,7	9,3±0,7	9,4±0,6
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					



Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гемоллизате эритроцитов концентрации диеновых конъюгат на 38,0% в сравнении с группой без фармакоррекции. Изменения остальных исследуемых показателей носили статистически недостоверный характер. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 вызывало достоверное снижение концентрации диеновых конъюгат на 42,7% в сравнении с группой животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Концентрация малонового диальдегида достоверно снижалась на 49,1% в сравнении с группой без фармакоррекции. У животных данной группы повышалась активность глутатионредуктазы на 77,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармакологической коррекции. Активность остальных ферментов антиоксидантной защиты практически не изменялась в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таким образом, в отдаленном периоде после отравления нейротоксикантами выявлен сдвиг баланса между про- и антиоксидантными системами в гемоллизате эритроцитов отравленных животных в пользу первой через 1 и 3 месяца после интоксикации. Однако через 3 месяца изменения были менее выраженными. Причины нарушения этого равновесия связаны не только с активацией свободно-радикальных процессов, но и истощением возможностей антиоксидантной системы (снижение уровня восстановленного глутатиона и активности антиоксидантных ферментов). Применение препаратов фармакологической коррекции позволило устранить выявленный дисбаланс за счет активации ферментов антиоксидантной системы и снижения активности свободно-радикального окисления, что свидетельствует о возможности их использования для лечения отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами.

## **4.2 Фармакологическая коррекция изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Результаты исследований показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов через 1 месяц у животных, перенесших острое тяжелое отравление тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции, представлены в таблице 17. Концентрация малонового диальдегида в гомогенате тканей головного мозга крыс достоверно возросла на 9,7% в сравнении с контрольной группой. Это может свидетельствовать о снижении активности системы антиоксидантной защиты. Концентрация восстановленного глутатиона снижалась на 9,2% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой в группе отравленных животных. В группе животных без фармакоррекции отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 20,4%, глутатионпероксидазы на 15,9% и глутатионредуктазы на 49,6% в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

В результате проведенной фармакологической коррекции установлено, что применение KZ-03 приводило к достоверному снижению содержания продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация диеновых конъюгат достоверно снижалась на 7,7%, а концентрация малонового диальдегида на 32,0% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатион-S-трансферазы достоверно возросла на 9,7% в сравнении с группой без фармакоррекции. Активность глутатионредуктазы в сравнении с группой без фармакоррекции возросла в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контрольной группой в данной группе была достоверно снижена концентрация МДА на 25,4% и активность глутатион-S-трансферазы на 12,7%.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гомогенате тканей головного мозга концентрации диеновых конъюгат на 7,9% в сравнении с группой без фармакоррекции. Снижалась также концентрация малонового диальдегида на

Таблица 17 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г белка	2,39±0,09	2,17±0,05*	2,18±0,06	2,19±0,03	2,06±0,05*
МДА, нмоль /г белка	178,9±4,2	196,4±3,9*	133,4±5,5*#	157,2±4,3*#	175,0±3,4#
ДК, нмоль/г белка	96,2±1,4	99,1±1,3	91,4±1,9#	91,2±1,7*#	90,0±1,2*#
СОД, Ед. акт./мг белка	71,0±4,1	71,8±4,8	61,4±4,5	81,9±5,3	69,0±3,5
ГТ, Ед. акт./г белка	333,7±6,6	265,5±10,8*	291,3±5,3*#	296,1±5,9*#	287,2±7,6*
ГП, Ед. акт./мг белка	1,32±0,11	1,11±0,02*	1,14±0,04	1,19±0,05	1,13±0,07
ГР, Ед. акт./г белка	64,9±5,4	32,7±2,6*	75,6±13,1#	80,9±3,5#	53,8±4,8
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г белка	58,9±5,9	58,7±2,5	52,5±2,0	50,8±4,2	52,2±5,4
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

19,9% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Активность глутатион-S-трансферазы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармакоррекции на 11,5%. Активность глутатионредуктазы достоверно возрастала в 2,4 раза в сравнении с отравленными животными, не получающими фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе была достоверно снижена концентрация МДА и ДК соответственно на 12,1% и на 5,2%, также значимо снижалась активность глутатион-S-трансферазы на 11,3%.

Применение БТШ 70 приводило к достоверному снижению концентрации диеновых конъюгат на 10,9% и концентрации малонового диальдегида на 9,1% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе была достоверно снижена концентрация ВГ и ДК соответственно на 13,8% и на 6,4%, также значимо уменьшалась активность глутатион-S-трансферазы на 13,9%.

Результаты исследований показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции представлены в таблице 18.

Концентрация диеновых конъюгат и малонового диальдегида достоверно возрастала на 3,9% и 29,7% в сравнении с контрольной группой. В группе животных без фармакоррекции отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 11,2%, глутатионпероксидазы на 17,2% и глутатионредуктазы на 44,4% в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению содержания продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация диеновых конъюгат достоверно снижалась на 5,6%, а концентрация малонового диальдегида на 18,9% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатионпероксидазы в сравнении с группой без фармакоррекции возрастала на 14,2% ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 18 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г белка	2,39±0,08	2,33±0,03	2,39±0,08	2,35±0,05	2,48±0,06#
МДА, нмоль /г белка	166,2±5,5	215,7±8,9*	174,9±7,3#	179,8±5,7#	171,2±6,3#
ДК, нмоль/г белка	89,3±1,3	92,8±1,0*	87,6±0,3#	88,8±0,7#	88,3±0,7#
СОД, Ед. акт./мг белка	80,2±4,5	75,3±2,0	78,3±9,3	71,0±3,6*	80,6±6,8
ГТ, Ед. акт./г белка	245,8±4,3	218,1±3,5*	230,2±11,2	231,6±2,2#	234,1±6,1
ГП, Ед. акт./мг белка	0,93±0,02	0,77±0,03*	0,88±0,04#	0,87±0,04	0,89±0,03#
ГР, Ед. акт./г белка	70,4±7,4	39,1±5,9*	48,7±3,3	68,8±5,4#	55,1±4,4
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г белка	54,2±2,6	52,0±1,6	53,3±1,9	50,9±3,0	58,0±1,9#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гомогенате тканей головного мозга концентрации диеновых конъюгатов на 4,3% в сравнении с группой без фармакоррекции. Снижалась также концентрация малонового диальдегида на 16,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Активность глутатион-S-трансферазы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармакоррекции на 6,1%. Активность глутатионредуктазы достоверно возрастала на 75,9% в сравнении с отравленными животными, не получающими фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе была достоверно снижена активность супероксиддисмутазы на 12,7%.

Применение БТШ 70 приводило к достоверному снижению концентрации диеновых конъюгатов на 4,8% и концентрации малонового диальдегида на 20,6% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Было выявлено увеличение концентрации восстановленного глутатиона на 6,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармакоррекции. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармакоррекции на 11,5%. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таким образом, при исследовании показателей антиоксидантной системы через 1 месяц после острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом в отдаленном периоде были выявлены нарушения гомеостаза антиоксидантной системы, которые проявились в увеличении образования продуктов перекисного окисления липидов и дисбалансе ферментативного звена. Применение препаратов фармакологической коррекции приводило к увеличению активности ферментов антиоксидантной защиты и снижению концентрации первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Это свидетельствует о стабилизации состояния антиоксидантной системы.

В таблице 19 представлены результаты исследований изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции.

Таблица 19 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г белка	2,12±0,10	1,97±0,20	2,20±0,09	2,04±0,22	2,14±0,14
МДА, нмоль /г белка	183,6±5,7	204,4±3,3*	163,7±7,0*#	175,4±7,3#	149,2±16,7#
ДК, нмоль/г белка	99,1±1,1	102,6±0,7*	97,3±2,4#	100,3±1,0	98,3±1,2#
СОД, Ед. акт./мг белка	78,8±6,0	58,9±5,9*	79,7±8,4	63,1±8,8	78,1±6,1#
ГТ, Ед. акт./г белка	306,1±16,1	258,1±11,5*	303,7±11,5#	260,9±19,5	279,1±16,2
ГП, Ед. акт./мг белка	1,92±0,07	1,66±0,10*	2,17±0,22#	1,77±0,11	2,13±0,33
ГР, Ед. акт./г белка	49,9±5,5	41,8±3,2	63,1±9,6	44,5±1,6	50,3±7,0
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г белка	48,2±2,8	44,3±2,4	54,1±4,8	45,2±3,2	53,6±3,6#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия концентрация диеновых конъюгат и малонового диальдегида по-прежнему была достоверно увеличена соответственно на 3,5% и 11,3% в сравнении с контрольной группой животных. Это может свидетельствовать о продолжающемся снижении активности системы антиоксидантной защиты. В группе животных без фармакологической коррекции отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 15,6%, глутатионпероксидазы на 13,5% и супероксиддисмутазы на 25,2% в сравнении с контрольной группой крыс ( $p < 0,05$ ).

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению содержания продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация диеновых конъюгат малонового диальдегида достоверно снижалась на 5,1% и на 19,9% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы в данной группе животных возрастала на 17,6% и на 30,7% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе была достоверно снижена концентрация МДА на 10,8%.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гомогенате тканей головного мозга концентрации малонового диальдегида на 14,1% в сравнении с группой без фармкоррекции. Активность ферментов антиоксидантной системы достоверно не изменялась. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 приводило к достоверному снижению концентрации диеновых конъюгат на 4,2% и концентрации малонового диальдегида на 27,0% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и супероксиддисмутазы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармкоррекции на 21,0% и на 32,6%. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.



Результаты исследований показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов через 3 месяца у животных, перенесших острое тяжелое отравление фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекцией, представлены в таблице 20.

Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом наблюдаемые изменения были менее выраженными: концентрация диеновых конъюгат и малонового диальдегида была достоверно увеличена соответственно на 4,0% и 33,7% в сравнении с контрольной группой животных. В группе животных без фармакологической коррекции отмечалось достоверное снижение активности глутатион-S-трансферазы на 5,4% в сравнении с контрольной группой крыс ( $p < 0,05$ ).

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению концентрации диеновых конъюгат достоверно на 5,2% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность ферментов антиоксидантной защиты достоверно не изменялась в данной группе животных в сравнении с группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в гомогенате тканей головного мозга концентрации малонового диальдегида на 14,2% в сравнении с группой без фармкоррекции. В данной группе животных отмечалось достоверное увеличение активности глутатион-S-трансферазы на 7,1% в сравнении с группой без фармкоррекции ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 приводило к достоверному снижению концентрации диеновых конъюгат на 5,0% и концентрации малонового диальдегида на 18,2% в сравнении с группой отравленных животных, не получавших фармакологическую коррекцию. Активность глутатион-S-трансферазы достоверно увеличивалась в сравнении с группой без фармкоррекции на 9,0%. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 20 – Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления фенолкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
ВГ, мкмоль/г белка	2,76±0,12	2,45±0,15	2,57±0,11	2,47±0,16	2,84±0,24
МДА, нмоль /г белка	212,2±6,3	283,8±14,4*	251,7±24,1	243,5±14,4#	231,9±13,5#
ДК, нмоль/г белка	101,7±0,7	105,8±1,3*	100,3±1,2#	101,5±1,7	100,5±2,0#
СОД, Ед. акт./мг белка	69,4±2,4	64,7±7,7	62,9±7,9	71,5±7,3	59,1±5,9
ГТ, Ед. акт./г белка	425,5±10,7	402,5±6,4*	431,3±13,9	428,8±7,4#	438,8±19,5#
ГП, Ед. акт./мг белка	1,57±0,10	1,64±0,15	1,46±0,21	1,56±0,22	1,31±0,14
ГР, Ед. акт./г белка	43,3±3,1	36,8±3,5	39,0±2,3	37,2±2,2	37,0±2,8
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г белка	42,2±4,0	40,7±3,0	36,6±3,9	38,6±3,9	39,7±1,9
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что изменение состояния системы антиоксидантной защиты, играющей важную роль в поддержании постоянства параметров внутренней среды, в отдаленном периоде после тяжелых интоксикаций тиопенталом натрия и фенилкарбаматом характеризуется сдвигом баланса между про- и антиоксидантными системами в тканях отравленных животных в пользу первой как через 1 месяц, так и через 3 месяца после интоксикации. Причины нарушения этого равновесия связаны не только с активацией свободно-радикальных процессов, но и истощением возможностей системы антирадикальной защиты. Применение препаратов фармакологической коррекции позволило в некоторой степени устранить выявленный дисбаланс за счет активации ферментов антиоксидантной системы и снижения активности свободно-радикального окисления, выявленные через 1 и 3 месяца после интоксикации и введения препаратов.

#### **4.3 Фармакологическая коррекция изменений активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия при исследовании ферментов энергетического обмена было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 13,1% и лактатдегидрогеназы на 13,0% в группе крыс, не получавших фармакологическую коррекцию в сравнении с контрольной группой (Таблица 21).

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению активности креатинкиназы на 19,6% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 17,7% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В результате проведенной фармакологической коррекции препаратом KSE-02 активность ферментов энергетического обмена статистически значимо не изменялась в сравнении с группой экспериментальных животных без

фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений также не наблюдалось.

Изучение активности ферментов энергетического обмена после применения БТШ 70 показало снижение активности креатинкиназы на 13,6% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 18,8% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В таблице 22 представлены результаты исследования изменения активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга лабораторных животных через 3 месяца после интоксикации фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции.

Через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 44,7% и лактатдегидрогеназы на 26,9% в группе крыс, не получавших фармакологическую коррекцию в сравнении с контрольной группой.

Изучение активности ферментов энергетического обмена при применении KZ-03 показало снижение активности креатинкиназы на 43,5% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 29,8% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Активность креатинкиназы при применении KSE-02 снижалась на 34,2% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой экспериментальных животных без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 приводило к снижению активности креатинкиназы на 21,6% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 13,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 21 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	273,3±8,1	309,2±7,4*	248,5±7,8#	289,5±7,6	267,0±11,7#
ЛДГ, Ед. акт./г белка	25,4±0,9	28,7±0,9*	23,6±1,9#	27,0±1,7	23,3±2,2#
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармакоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Таблица 22 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	219,7±16,3	318,0±27,9*	179,7±34,5#	209,2±17,7#	249,1±36,2#
ЛДГ, Ед. акт./г белка	28,2±1,7	35,8±2,2*	25,1±3,4#	31,4±2,1	30,9±0,9#
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармакоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Проведенное исследование показало увеличение активности ферментов энергетического обмена через 1 месяц после острого отравления нейротоксикантами, что может свидетельствовать об активации процессов гликолиза из-за снижения выработки АТФ в митохондриях. Применение препаратов фармакологической коррекции стимулировало аэробные окислительные процессы, о чем свидетельствует восстановление активности исследуемых ферментов энергетического обмена до уровня контрольной группы.

Через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия при исследовании ферментов энергетического обмена было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы на 9,3% и лактатдегидрогеназы на 23,1% в группе крыс, не получавших фармакологическую коррекцию в сравнении с контрольной группой (Таблица 23).

Изучение активности ферментов энергетического обмена в результате применения KZ-03 не показало достоверных изменений активности креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в сравнении с группой экспериментальных животных без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В результате проведенной фармакологической коррекции нарушений с помощью KSE-02 изучение активности ферментов энергетического обмена показало снижение активности креатинкиназы на 7,7% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 15,6% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ 70 приводило к снижению активности креатинкиназы на 7,0% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 10,3% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом наблюдаемые изменения активности были менее выраженными при изучении ферментов энергетического обмена. Активность лактатдегидрогеназы была достоверно

увеличена на 18,3% в группе крыс, не получавших фармакологическую коррекцию в сравнении с контрольной группой (Таблица 24).

Изучение активности ферментов энергетического обмена при применении KZ-03 показало снижение активности креатинкиназы на 18,4% в сравнении с группой экспериментальных животных без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Изучение активности ферментов энергетического обмена при применении KSE-02 не показало достоверных различий в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Изучение активности ферментов энергетического обмена при применении БТШ 70 показало снижение активности креатинкиназы на 19,5% ( $p < 0,05$ ) и лактатдегидрогеназы на 19,0% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой крыс без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таким образом, через 3 месяца после острого отравления нейротоксикантами наблюдалась менее выраженная активация ферментов энергетического обмена, отвечающих за гликолитический и лактатный механизм энергообеспечения. Применение препаратов фармакологической коррекции позволило устранить выявленный дисбаланс и компенсировать выявленные нарушения.

Таблица 23 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	367,7±9,6	402,1±6,3*	391,1±9,2	371,0±10,4#	373,9±7,9#
ЛДГ, Ед. акт./г белка	24,4±1,2	30,0±1,5*	27,6±1,7	25,3±1,5#	26,9±2,2
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Таблица 24 – Изменение активности ферментов энергетического обмена в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	352,9±13,5	419,3±26,6	342,0±16,3#	349,9±11,5	337,5±11,0#
ЛДГ, Ед. акт./г белка	33,8±2,3	40,0±2,6*	36,5±1,7	36,9±4,5	32,4±2,8#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					



#### **4.4 Фармакологическая коррекция изменений концентрации биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Результаты исследований изменений концентрации биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 1 месяц у животных, перенесших острое тяжелое отравление тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекцией, представлены в таблице 25.

В результате исследования показателей нейроспецифических белков у контрольных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия концентрация нейронспецифической енолазы достоверно снижалась на 28,3% в сравнении с контрольной группой. Концентрация основного белка миелина увеличивалась в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой в группе отравленных животных. В группе животных без фармкоррекции отмечалось достоверное увеличение концентрации белка S-100 в сравнении с контрольной группой на 56,8%. Концентрация белка PEDF в группе после отравления тиопенталом натрия достоверно увеличивалась на 26,6% в сравнении с контрольной группой. Также было выявлено в данной экспериментальной группе снижение концентрации мелатонина на 66,8% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой.

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению концентрации основного белка миелина на 26,3% в сравнении с экспериментальной группой без фармкоррекции. Концентрация белка S-100 снижалась на 20,9% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармакологической коррекции. Также наблюдался рост концентрации мелатонина в 2,2 раза в сравнении с группой крыс, не получавших фармкоррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 25 – Изменение концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
NSE, пг/мкл	17,38±1,20	12,45±1,38*	14,90±1,35	17,24±0,70#	17,06±1,24#
MBP, нг/мл	7,92±4,84	21,31±0,50*	15,69±1,52#	19,87±3,58	11,06±5,92#
S100, нг/мл	5,00±0,55	7,84±0,65*	6,20±0,20#	6,10±0,68#	5,51±0,20#
GFAP, пг/мл	38,5±9,6	54,4±1,1	35,8±10,0	47,0±13,7	30,5±3,9#
BDNF, пг/мл	346,0±76,4	320,6±24,6	322,0±75,9	250,9±11,3	270,7±57,8
PEDF, нг/мл	161,2±15,0	204,2±7,0*	208,3±28,7	284,2±32,5*	229,8±23,5
Мелатонин, пг/мл	211,9±87,7	70,3±10,3*	156,7±29,6#	112,5±16,5#	153,8±14,8#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармакоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Применение KSE-02 вызывало достоверное увеличение в сыворотке крови крыс концентрации нейронспецифической енолазы на 38,4% в сравнении с группой без фармакоррекции. Снижалась также концентрация белка S-100 на 22,2% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Отмечалось достоверное увеличение концентрации мелатонина на 60,0% в сравнении с группой экспериментальных крыс, не получавших фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе была значимо увеличена концентрация пигментного фактора эпителиального происхождения на 76,3%.

Применение БТШ 70 приводило к достоверному росту концентрации нейронспецифической енолазы на 36,9% в сравнении с группой без фармакоррекции. Концентрация основного белка миелина (MBP) уменьшалась на 48,1% в сравнении с группой крыс без фармакоррекции. Снижалась также концентрация белка S-100 на 29,1% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Наблюдалось достоверное снижение концентрации белка GFAP, содержащегося в микроглии на 43,9% в сравнении с экспериментальной группой без фармакоррекции. Отмечалось достоверное увеличение концентрации мелатонина в 2,2 раза в сравнении с группой экспериментальных крыс, не получавших фармакологическую коррекцию. В сравнении с контролем в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

При исследовании отдаленных последствий через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом концентрация нейронспецифической енолазы (NSE) достоверно уменьшалась на 29,5% в сравнении с контрольной группой (Таблица 26). Концентрация основного белка миелина (MBP) – маркера разрушения миелиновых оболочек увеличивалась в 3,8 раза ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой в группе отравленных животных. В группе животных без фармакоррекции отмечалось достоверное увеличение концентрации белка S-100 на 42,8% в сравнении с контрольной группой. Концентрация белка PEDF в группе после отравления фенилкарбаматом достоверно увеличивалась на 32,5% в сравнении с контрольной группой.

Таблица 26 – Изменение концентрации показателей биохимических маркеров нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
NSE, пг/мкл	17,38±0,12	12,25±0,59*	13,48±0,42*	14,45±1,58	14,04±1,64
MBP, нг/мл	7,92±4,84	30,54±0,61*	12,71±1,87#	14,83±3,68#	17,81±4,02#
S100, нг/мл	5,00±0,55	7,14±0,81*	4,79±0,48#	5,61±0,62#	5,12±0,95#
GFAP, пг/мл	38,5±9,6	48,2±0,8	45,5±8,4	34,2±10,3#	32,1±3,8#
BDNF, пг/мл	346,0±76,4	324,0±45,6	309,0±37,8	239,4±27,5	231,8±46,2#
PEDF, нг/мл	161,2±15,0	213,7±7,2*	223,7±0,3*	207,1±21,2	204,7±18,6
Мелатонин, пг/мл	211,9±87,69	68,1±23,2	142,8±10,8#	83,5±40,0	329,1±118,8#
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармакоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Применение KZ-03 приводило к достоверному снижению концентрации основного белка миелина на 58,3% в сравнении с экспериментальной группой без фармакоррекции. Концентрация белка S-100 снижалась на 32,9% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой без фармакологической коррекции. Также наблюдался рост концентрации мелатонина – она достоверно возрастала в 2,1 раза в сравнении с группой крыс, не получавших фармакоррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе была значимо снижена концентрация NSE на 22,4% и увеличена концентрация пигментного фактора эпителиального происхождения на 38,8%.

Применение KSE-02 вызывало достоверное снижение в сыворотке крови крыс концентрации основного белка миелина (MBP) на 51,4% в сравнении с группой без фармакоррекции. Снижалась также концентрация белка S-100 на 21,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Наблюдалось достоверное снижение концентрации белка GFAP на 29,0% в сравнении с экспериментальной группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Применение БТШ приводило к снижению на 41,6% концентрации основного белка миелина (MBP) в сравнении с группой крыс без фармакоррекции. Снижалась и концентрация белка S-100 на 28,3% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных без фармакоррекции. Наблюдалось достоверное снижение концентрации белка GFAP на 33,4% в сравнении с экспериментальной группой без фармакоррекции. Отмечалось снижение концентрации BDNF на 28,4% в сравнении с группой крыс без фармакологической коррекции. Выявлено достоверное увеличение концентрации мелатонина в 4,8 раза в сравнении с группой экспериментальных крыс, не получавших фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таким образом, изучение нейроспецифических маркеров головного мозга в сыворотке крови показало, что острые тяжелые отравления исследуемыми нейротоксикантами в отдаленном периоде сопровождались выраженным

дисбалансом между показателями нейродеструкции и нейропротекции. Применение препаратов фармакологической коррекции приводило к нормализации гомеостаза нейротрофических маркеров. Это может свидетельствовать о стабилизации баланса между факторами нейропротекции и нейродеструкции.

#### **4.5 Фармакологическая коррекция изменений поведенческой активности и когнитивной функции лабораторных животных в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом**

Данный раздел работы проводился совместно с лабораторией психофармакологии (ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России) под руководством старшего научного сотрудника Лисицкого Д.С.

Результаты исследования поведенческой активности лабораторных животных через 1 месяц у животных, перенесших острое тяжелое отравление тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекцией, представлены в таблице 27.

Через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и применения препаратов фармакологической коррекции в тесте в «открытое поле» выявлена различная по интенсивности динамика показателей в сравнении с контрольной группой экспериментальных животных.

В группе без фармкоррекции зарегистрированы достоверные изменения в сравнении с контролем показателей двигательной активности: вертикальные и горизонтальные перемещения, средняя скорость, среднее пройденное расстояние, общая двигательная активность и активность в центре площадки. Выявлено достоверное снижение количества горизонтальных перемещений на 51,7%, вертикальных перемещений на 32,9%, общей двигательной активности на 44,8%, двигательной активности в центре площадки на 78,3%, среднего пройденного расстояния на 36,2%, и средней скорости на 33,7%.

В сравнении с группой без фармкоррекции применение KZ-03 вызывало достоверное увеличение двигательной активности в центре площадки на 98,0%,

Таблица 27 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Горизонтальные перемещения, число актов	90,6±20,5	43,8±7,7*	51,8±8,2	53,3±8,9	52,1±7,6
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	52,3±7,4	35,1±4,1*	35,2±4,4	36,8±3,4	31,1±3,7
Груминг, число актов	23,8±5,6	35,7±5,9	29,4±6,3	27,0±6,2	22,4±3,8
Среднее пройденное расстояние, м	3,45±0,39	2,20±0,34*	2,70±0,45	2,77±0,48	2,70±0,30
Средняя скорость, см/с	2,64±0,35	1,75±0,21*	2,23±0,37	2,29±0,40	2,13±0,27
Общая двигательная активность, число актов	142,9±27,7	78,9±11,6*	87,0±12,2	90,1±11,1	83,2±10,9
Двигательная активность в центре площадки, число актов	23,0±6,4	5,0±0,9*	9,9±2,0#	10,0±1,5#	8,4±1,3#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	119,9±21,5	73,9±11,1	77,1±10,7	80,0±9,3	74,8±9,9
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

KSE-02 – на 100,0%, БТШ 70 – на 76,0% ( $p \leq 0,05$ ). В сравнении с контрольной группой в группах с фармакологической коррекцией достоверных изменений выявлено не было.

Через 1 месяц после интоксикации фенилкарбаматом и введении препаратов фармакологической коррекции в тесте в «открытое поле» также выявлена различная по интенсивности динамика показателей в сравнении с контрольной группой экспериментальных животных (таблица 28).

В группе отравленных животных, не получавших фармкоррекции, зарегистрированы достоверные изменения в сравнении с контрольной группой показателей двигательной активности: вертикальные перемещения, средняя скорость, среднее пройденное расстояние, двигательная активность в центре площадки. Выявлено достоверное снижение количества горизонтальных перемещений на 44,5%, двигательной активности в центре площадки на 69,5%, среднего пройденного расстояния на 50,5% и средней скорости на 50,4%.

Экспериментальная терапия KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводила к нормализации исследуемых показателей. Применение KZ-03 вызывало достоверное увеличение горизонтальных перемещений на 70,7%, общей двигательной активности на 53,5%, двигательной активности в центре площадки в 4,8 раза, среднего пройденного расстояния на 92,5% и средней скорости на 90,1% в сравнении с группой без фармкоррекции. В группе экспериментальных животных, которым вводился KSE-02, отмечалось достоверное увеличение количества актов груминга в 2,4 раза, среднего пройденного расстояния в 2,2 раза и средней скорости в 2,2 раза в сравнении с группой без фармкоррекции. Применение БТШ 70 вызывало достоверное увеличение двигательной активности в центре площадки в 2,8 раза в сравнении с группой без фармкоррекции. В сравнении с контрольной группой в группах с фармакологической коррекцией достоверных изменений выявлено не было.

Анализ результатов теста «открытое поле» через 1 месяц после острой тяжелой интоксикации исследуемыми нейротоксикантами показал, что наблюдаемое снижение горизонтальной активности свидетельствует об



Таблица 28 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Горизонтальные перемещения, число актов	58,8±8,1	32,6±4,5*	55,7±5,4#	63,0±12,2	47,4±11,4
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	36,1±3,9	28,6±4,6	38,3±3,4	41,1±5,7	28,4±3,1
Груминг, число актов	22,8±5,0	17,1±3,7	26,9±6,0	41,1±5,5#	24,9±4,4
Среднее пройденное расстояние, м	2,95±0,51	1,46±0,25*	2,81±0,30#	3,17±0,64#	2,20±0,53
Средняя скорость, см/с	2,44±0,42	1,21±0,20*	2,30±0,24#	2,62±0,53#	1,82±0,44
Общая двигательная активность, число актов	94,9±11,9	61,3±8,5	94,0±7,8#	104,1±17,2	75,8±14,4
Двигательная активность в центре площадки, число актов	10,7±2,3	3,3±0,7*	15,7±2,3#	10,1±3,0	9,3±1,8#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	84,2±10,1	58,0±8,2	78,3±7,3	94,0±14,9	66,5±12,8
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

ухудшении ориентировочно-исследовательской функции. Данное положение подтверждается снижением двигательной активности в центре площадки.

Применение препаратов фармакологической коррекции приводило к восстановлению показателей двигательной активности подопытных животных, что свидетельствует о снижении негативного влияния последствий токсического воздействия токсиканта на поведенческие реакции.

В таблице 29 приведены результаты измерения показателей теста УРПИ через 1 месяц после введения тиопентала натрия и проведенной фармакологической коррекции.

При исследовании когнитивных функций в тесте УРПИ через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в группе без фармакологической коррекции наблюдалось снижение относительного количества обученных животных в 3 раза через 2 часа после обучения и в 4,5 раза через 24 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. Данное снижение свидетельствует о нарушениях процессов консолидации кратковременной и долговременной памяти. Также наблюдалось достоверное уменьшение латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере и увеличение времени нахождения в темной камере через 2 часа и 24 часа после обучения.

Применение препаратов фармакологической коррекции KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводило к увеличению относительного количества обученных животных в сравнении с группой без фармкоррекции, соответственно, на 50, 30 и 20% через 2 часа после обучения. Также наблюдалось увеличение латентного времени захода в темную камеру, и времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения. Через 24 часа после обучения наблюдались сходные результаты сохранения памятного следа под влияние исследуемых препаратов. Максимальный эффект оказало применение препарата KZ-03.

При наблюдении животных в тесте УРПИ через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом в группе без фармакологической коррекции относительное количество обученных животных было на 10% меньше через 2 часа после обучения и на 40% меньше через 24 часа после обучения в сравнении

Таблица 29 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» у лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Латентный период первого захода, с	22,7±4,4	21,3±4,3	37,4±10,0	20,2±4,3	40,2±14,2
Латентный период захода через 2 часа, с	108,3±11,7	52,8±17,1*	96,6±15,6	73,2±19,1	62,2±19,3
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	108,3±11,7	54,6±16,6*	101,1±13,0#	86,9±15,6	63,3±19,0
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	11,7±11,7	65,4±16,6*	18,9±13,0#	33,1±15,6	56,7±19,0
% обученных животных через 2 часа после обучения	90	30	80	60	50
Латентный период захода через 24 часа, с	108,2±11,8	37,3±15,8*	76,0±18,0#	75,0±18,5	73,1±17,0
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	108,2±11,8	40,2±15,5*	77,6±17,4#	76,5±18,0	73,1±17,0
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	11,8±11,8	79,8±15,5*	42,4±17,4#	43,5±18,0	46,9±17,0
% обученных животных через 24 часа после обучения	90	20	60	60	50
Примечание:					
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Таблица 30 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» у лабораторных животных через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Латентный период первого захода, с	16,8±8,7	22,2±6,0	13,9±2,4	15,1±2,5	86,9±11,5*#
Латентный период захода через 2 часа, с	85,3±15,1	71,0±16,8	97,8±10,8	77,7±15,0	94,3±15,5
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	86,5±14,9	75,0±15,5	101,9±9,8	83,2±13,3	94,3±15,5
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	33,5±14,9	45,0±15,5	18,1±9,8	36,8±13,3	25,7±15,5
% обученных животных через 2 часа после обучения	60	50	66	50	70
Латентный период захода через 24 часа, с	85,3±17,7	53,8±15,4	76,4±16,8	65,6±16,4	88,7±16,2
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	87,8±16,5	53,8±15,4	83,0±14,2	69,1±15,2	88,7±16,2
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	32,2±16,5	66,2±15,4	37,0±14,2	50,9±15,2	31,3±16,2
% обученных животных через 24 часа после обучения	70	30	55	40	70
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

с контрольной группой (таблица 30). Также наблюдалась тенденция к уменьшению латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере и увеличению времени нахождения в темной камере через 2 часа и 24 часа после обучения.

Введение препаратов фармакологической коррекции KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводило к незначительному увеличению относительного количества обученных животных на 16%, 0% и 20% через 2 часа после обучения в сравнении с группой, не получавшей фармакологическую коррекцию. При применении БТШ 70 наблюдалось достоверное увеличение периода первого захода в 5 раз. Отмечалось незначительное увеличение латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения. Через 24 часа после обучения наблюдались сходные результаты сохранения памятного следа под влиянием исследуемых препаратов, а именно увеличение относительного количества обученных животных на 25%, 10% и 40% в сравнении с группой без фармакоррекции. Максимальный эффект показал препарат БТШ 70.

Через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия между контрольной группой животных и группой без фармакологической коррекции также наблюдались достоверные изменения показателей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте «открытое поле» (таблица 31). Выявлено достоверное снижение количества горизонтальных перемещений на 25,1%, общей двигательной активности на 21,4%, двигательной активности в центре площадки на 55,9%.

При применении KZ-03 наблюдалось достоверное увеличение горизонтальных перемещений на 58,3%, двигательной активности в центре площадки в 2,1 раза и снижение количества актов груминга на 55,0% в сравнении с группой без фармакоррекции. В группе экспериментальных животных, которым вводился KSE-02, отмечалось достоверное снижение количества актов груминга на 55,5% в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в группах фармакологической коррекции достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 31 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Горизонтальные перемещения, число актов	53,8±4,9	40,3±3,8*	63,8±10,1#	48,7±10,3	64,3±9,5#
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	35,4±2,6	29,8±1,8	36,6±5,5	28,6±4,5	35,1±4,8
Груминг, число актов	21,2±4,4	37,3±6,1*	16,8±3,8#	16,6±3,3#	20,0±3,3#
Среднее пройденное расстояние, м	3,00±0,28	2,71±0,32	3,20±0,49	2,26±0,53	3,41±0,39
Средняя скорость, см/с	2,47±0,24	1,95±0,19	2,59±0,39	1,74±0,46	2,69±0,34
Общая двигательная активность, число актов	89,2±6,6	70,1±4,7*	100,4±15,4	76,3±14,1	99,4±14,0
Двигательная активность в центре площадки, число актов	14,5±3,8	6,4±1,1*	13,2±1,9#	10,6±2,3	15,1±3,7#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	74,7±4,9	63,7±4,4	85,2±13,7	65,7±12,0	84,3±11,2
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Применение БТШ 70 вызывало достоверное увеличение горизонтальных перемещений на 59,6%, двигательной активности в центре площадки на 136,1% и снижение количества актов груминга на 46,4% в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Через 3 месяца после введения фенилкарбамата между показателями контрольной группы и группы без фармакологической коррекции наблюдались более выраженные изменения показателей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности (таблица 32).

Отмечалось значимое снижение количества горизонтальных перемещений на 56,8%, вертикальных перемещений на 56,6%, общей двигательной активности на 56,8%, двигательной активности в центре площадки на 73,9%, двигательной активности на периферии площадки на 54,0%, среднего пройденного расстояния на 64,1%, и средней скорости на 64,3%.

Применение KZ-03 вызывало достоверное увеличение горизонтальных перемещений в 2,4 раза, вертикальных перемещений в 2,1 раза, общей двигательной активности в 2,2 раза, двигательной активности в центре площадки в 4,2 раза, двигательной активности на периферии площадки в 2,1 раза, среднего пройденного расстояния в 2,3 раза и средней скорости в 2,3 раза в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

В группе экспериментальных животных, которым вводился KSE-02, отмечалось достоверное увеличение горизонтальных перемещений в 2,5 раза, вертикальных перемещений в 2,4 раза, общей двигательной активности в 2,4 раза, двигательной активности в центре площадки в 3,4 раза, двигательной активности на периферии площадки в 2,4 раза, количества актов груминга в 1,7 раза, среднего пройденного расстояния в 2,6 раза и средней скорости в 2,6 раза в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 32 – Изменение показателей в тесте «открытого поля» у лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Горизонтальные перемещения, число актов	48,9±7,4	21,1±5,6*	50,3±9,0#	52,0±7,2#	58,1±13,5#
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	36,4±5,3	15,8±3,5*	32,6±4,3#	38,1±1,8#	37,8±5,7#
Груминг, число актов	38,7±7,0	23,8±5,9	38,9±8,4	41,2±5,9#	30,1±7,1
Среднее пройденное расстояние, м	3,04±0,49	1,09±0,30*	2,49±0,40#	2,79±0,47#	3,19±1,02#
Средняя скорость, см/с	2,52±0,41	0,90±0,24*	2,07±0,33#	2,30±0,39#	2,64±0,84#
Общая двигательная активность, число актов	85,3±12,5	36,9±8,5*	82,9±12,5#	90,1±8,2#	95,9±19,1#
Двигательная активность в центре площадки, число актов	11,9±2,8	3,1±1,4*	12,9±2,6#	10,6±1,9#	13,8±4,8#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	73,4±10,8	33,8±7,4*	70,0±10,2#	79,5±7,0#	82,1±15,1#
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					



При применении БТШ 70 наблюдалось достоверное увеличение горизонтальных перемещений в 2,8 раза, вертикальных перемещений в 2,4 раза, общей двигательной активности в 2,6 раза, двигательной активности в центре площадки в 4,5 раза, двигательной активности на периферии площадки в 2,4 раза, среднего пройденного расстояния в 2,9 раза и средней скорости в 2,9 раза в сравнении с группой без фармакоррекции. В сравнении с контрольной группой в данной группе достоверных изменений выявлено не было. Уменьшение количества актов груминга через 3 месяца после интоксикации можно трактовать в данном случае как снижение астенизации и снижение пассивно-оборонительного компонента.

Применение препаратов фармакологической коррекции приводило к восстановлению показателей двигательной активности экспериментальных животных, что свидетельствует о снижении негативного влияния последствий токсического воздействия токсиканта на поведенческие реакции.

В таблице 33 приведены результаты измерения показателей теста УРПИ через 3 месяца после введения тиопентала натрия и проведенной фармакологической коррекции.

Через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия в группе без фармакологической коррекции также наблюдалось снижение относительного количества обученных животных через 2 часа и 24 часа после обучения в сравнении с контрольной группой на 20% и на 10%. Данное снижение может свидетельствовать о сохранении негативных последствий влияния тиопентала натрия на процессы консолидации кратковременной и долговременной памяти.

Применение препаратов фармакологической коррекции KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводило к увеличению относительного количества обученных животных в сравнении с группой без фармакологической коррекции и увеличивалось на 50% во всех трех опытных группах через 2 часа после обучения. Также отмечалось увеличение латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения.

Таблица 33 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» у лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Латентный период первого захода, с	18,2±9,8	26,5±10,9	50,0±13,8*	52,7±13,9*	44,2±14,7
Латентный период захода через 2 часа, с	74,2±18,7	61,7±17,3	108,4±11,6#	108,2±11,8#	107,0±12,3#
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	74,2±18,7	72,1±14,1	108,4±11,6#	109,7±10,3#	107,0±12,3
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	45,8±18,7	47,9±14,1	11,6±11,6#	10,3±10,3#	13,0±13,0
% обученных животных через 2 часа после обучения	60	40	90	90	90
Латентный период захода через 24 часа, с	64,4±18,6	60,2±17,9	90,1±15,4	119,8±0,2*#	120,0±0,0*#
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	73,3±18,6	68,4±15,6	90,1±15,4	119,8±0,2*#	120,0±0,0*#
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	46,7±18,6	51,6±15,6	29,9±15,4	0,2±0,2*#	0,0±0,0*#
% обученных животных через 24 часа после обучения	50	40	80	90	100
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Наибольшую эффективность оказал препарат БТШ 70, применение которого увеличивало относительное количество обученных животных на 60% в сравнении с группой без фармакоррекции и приводило к 100% результату воспроизведения памятного следа через 24 часа после обучения. Тогда как при применении KZ-03 относительное количество обученных животных увеличивалась на 40%, а при KSE-02 на 50% в сравнении с группой лабораторных животных, не получавшей фармакологическую коррекцию. В сравнении с контрольной группой в группах фармакоррекции достоверных изменений выявлено не было.

В таблице 34 приведены результаты изменения показателей теста УРПИ через 3 месяца после введения фенилкарбамата и проведенной фармакологической коррекцией.

Через 3 месяца после введения фенилкарбамата в группе лабораторных животных без фармакологической коррекции наблюдалось снижение относительного количества обученных животных на 27% через 2 часа после обучения и на 17% – через 24 часа в сравнении с контрольной группой. Также наблюдалось уменьшение латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере и увеличение времени нахождения в темной камере через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. Полученные данные также свидетельствуют о сохранении негативных последствий отравления фенилкарбаматом на процессы консолидации кратковременной и долговременной памяти.

Применение препаратов фармакологической коррекции KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводило к увеличению относительного количества обученных животных через 2 часа на 47%, 37% и 27%, а через 24 часа после обучения на 36%, 26% и 16% в сравнении с контрольной группой животных. Также наблюдалось увеличение латентного времени захода в темную камеру, времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения в сравнении с группой лабораторных животных без фармакологической коррекции.

Таблица 34 – Результаты теста «Условная реакция пассивного избегания» у лабораторных животных через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом и проведенной фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Контроль (N=6)	Без коррекции (N=6)	KZ-03 (N=6)	KSE-02 (N=6)	БТШ 70 (N=6)
Латентный период первого захода, с	18,2±9,8	36,6±12,9	42,7±14,0	22,4±5,1	40,6±9,8
Латентный период захода через 2 часа, с	94,1±14,6	52,6±16,5*	111,2±8,6#	91,3±15,5#	76,4±18,0
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	103,8±11,1	55,2±16,6*	115,6±4,2#	93,5±14,3	76,4±17,8
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	16,2±11,1	64,8±16,6*	4,4±4,2#	26,5±14,3	43,2±17,8
% обученных животных через 2 часа после обучения	60	33	80	70	60
Латентный период захода через 24 часа, с	95,9±12,4	61,7±17,1	89,1±15,4	96,1±13,9	78,1±17,2
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	95,9±12,4	63,4±17,1	91,1±14,3	100,2±12,8	78,1±17,2
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	24,1±12,4	56,6±17,1	28,0±14,6	19,8±12,8	41,9±17,2
% обученных животных через 24 часа после обучения	60	44	80	70	60
Примечание: * – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с группой без фармкоррекции (при $p \leq 0,05$ ; критерий Манна-Уитни)					

Таким образом, проведенное исследование показало, что после однократного отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом в отдаленном периоде происходит нарушение высших интегративных функций ЦНС. Данное положение подтверждается развитием у экспериментальных животных тревожности, снижением эмоционального статуса как через 1 месяц, так и через 3 месяца после интоксикации. Нарушение когнитивных функций подтверждено негативным влиянием отравлений на процессы обучения и запоминания. Применение KZ-03, KSE-02, БТШ 70 приводило к снижению тревожности животных, а также к улучшению процессов кратковременной и долговременной памяти.

## ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первый этап экспериментального исследования, направленного на изучение изменений состояния антиоксидантной системы, процессов перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга, активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга, нейротрофических маркеров в сыворотке крови и поведенческих, когнитивных функций у лабораторных крыс в отдаленном периоде после острого отравления тиопенталом натрия (моделирование комы) и фенилкарбаматом (моделирование судорог) позволил выявить дисбаланс этих систем, как в крови, так и в тканях головного мозга, а также нарушение поведенческой активности и снижение процессов консолидации долговременной памяти. Полученные результаты доказывают наличие отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами и актуальность таких исследований.

Анализ полученных результатов показал, что характер изменений изученных биохимических показателей в исследуемых тканях при отравлении нейротоксикантами с различным механизмом действия имеет одинаковую направленность и неспецифический характер.

При исследовании изменений показателей состояния антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга были получены данные, свидетельствующие о снижении активности системы антирадикальной защиты. Вследствие интоксикации наступает сдвиг баланса между про- и антиоксидантными системами отравленных животных в пользу первой.

Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза клетки, проявляющееся в увеличении скорости свободнорадикальных процессов и генерации большого количества активных форм кислорода, приводит к окислительному стрессу (Новиков В.Е. и др., 2014). На клеточном уровне это проявляется в увеличении концентрации высокореакционных сигнальных молекул, в частности, активных форм кислорода, избыточное появление которых

приводит к активации системы антиоксидантной защиты. Прямым следствием накопления свободных радикалов и последующего снижения антиоксидантного статуса являются структурно-функциональные нарушения на клеточном и субклеточном уровне, лежащие в основе патогенеза многих заболеваний (Фархутдинова Л.М., 2015). Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что усиление образования активных форм кислорода (в том числе и при метаболизме ряда ксенобиотиков) является основой реализации механизмов цитотоксичности, мутагенеза, канцерогенеза, старения и программируемой клеточной гибели (Karrus N. et al., 1981). Первой преградой на пути проявления токсического действия супероксидного радикала является супероксиддисмутаза, которая является ключевым ферментом, снижающим скорость превращения  $O_2^-$  в другие активные формы кислорода и контролирующим скорость свободнорадикальных процессов (Дубинина Е.Е., 1989). СОД катализирует реакцию образования перекиси водорода и триплетного кислорода из супероксидного радикала:



Образуемая в результате реакции перекись водорода способна по механизму обратной связи инактивировать СОД (Оковитый С.В., 1995), что подтвердилось при исследовании активности СОД через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в гемолизате эритроцитов.

Однако причины нарушения этого равновесия связаны не только с активацией свободно-радикальных процессов, но и со снижением тканевого уровня восстановленного глутатиона за счет изменения активности ферментов глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы, которые принимают участие в антиоксидантной защите и регуляции тиол-дисульфидного равновесия в тканях, а также инактивируют продукты перекисного окисления липидов. Это согласуется с данными о том, что оксидативное повреждение тканей  $H_2O_2$  развивается при дефиците глутатиона (Sessink P.J. et al., 1996). При этом интегральным показателем состояния обмена глутатиона в тканях, с учетом сложности и порой даже разнонаправленности всех происходящих изменений изучаемой

биохимической системы, может служить степень снижения концентрации его восстановленной формы. Это положение вполне согласуется с представлениями о системе глутатиона, как о специфической саморегулирующейся биохимической системе, показателем деятельности которой может служить поддержание равновесия между окисленной и восстановленной формами (Meister A. et al., 1983). Система глутатиона играет ведущую роль в механизме цитопротекции. Ей принадлежит основная роль, как в механизмах утилизации органических гидроперекисей, так и в регуляции тиол-дисульфидного статуса клетки, поэтому реализация механизмов цитотоксического действия, связанных с нарушениями состояния клеточных мембран, невозможна без глубокого повреждения изучаемой биохимической системы. Повреждения системы глутатиона занимают ведущее место в реализации механизмов цитотоксического действия широкого круга ксенобиотиков как при остром воздействии (Глушков С.И., 2007), так и в отдаленном периоде после тяжелой интоксикации. Это подтверждается полученным снижением концентрации ВГ и активности ферментов АОС через 1 и 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом. Повышение активности глутатионпероксидазы через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия в гемолизате эритроцитов объясняется тем, что она является субстрат-активируемым ферментом и при повышении концентрации продуктов перекисного окисления липидов повышается и ее активность. Кроме того, данные В.И. Кулинского и Л.С. Колесниченко (1993) свидетельствуют о ведущей роли ГП в обезвреживании не только органических гидроперекисей, но и  $H_2O_2$  (Кулинский В.И. и др., 1993). У ГП высокое сродство к перекиси водорода ( $K_m$  составляет  $10^{-6}$  М) (Pohl L. et al., 1981). Увеличение активности ГП рассматривается как компенсаторная реакция на развившийся патологический процесс.

Результаты исследования показали, что активность ГТ, обладающего глутатионпероксидазной активностью, снижается в отдаленном периоде после интоксикации. Данное снижение можно объяснить увеличением концентрации гидроперекисей, что является пусковым звеном отдаленных повреждений. При



исследовании активности антиоксидантной системы, определяемой в тканях головного мозга, была получена сходная тенденция изменения показателей после острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом в сравнении с контрольной группой.

При оценке концентрации продуктов перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга выявлялось значимое увеличение содержания лишь первичных продуктов – диеновых конъюгат во всех экспериментальных группах для обеих временных точек. Сходные изменения концентрации ДК в гемолизате эритроцитов и в тканях головного мозга через 1 и 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом свидетельствует о перспективной возможности использования определения содержания первичных продуктов ПОЛ в клетках крови в качестве лабораторного теста для диагностики тяжести поражения головного мозга. Увеличение образования только первичных продуктов также может свидетельствовать о компенсаторно-адаптивной реакции со стороны АОС (Кашуро В.А., 2003). Необходимо отметить, что диеновые конъюгаты существуют в тканях весьма ограниченное время и обладают высокой реакционной способностью, быстро подвергаясь последующим превращениям (Саватеев Н.В., 1984). Поэтому накопление первичных продуктов перекисного окисления липидов не полностью отражает процессы пероксидации *in vivo*, по мнению некоторых авторов (Гаврилов В.Б. и др., 1988). Более корректным показателем в этом отношении считается определение уровня малонового диальдегида. В ходе реакции определяется количество МДА и его предшественников типа перекисей и гидроперекисей, которые при нагревании в кислой среде разлагаются с образованием МДА, вступающего в дальнейшую реакцию с ТБК (Asakawa T. et al., 1980). Поэтому данные, свидетельствующие о более выраженном накоплении именно МДА только в тканях головного мозга, но в обеих экспериментальных группах и временных точках, указывают на интенсификацию процессов ПОЛ (Глушков С.И., 2002). Таким образом, при большей длительности или повторном воздействии экстремальных факторов возможно истощение резервов АОС и срыв

компенсаторно-адаптивной реакции. Вследствие этого могут активироваться различные неблагоприятные процессы (аутоиммунные реакции, опухолевый рост), как извращенная реакция на внешние раздражители, а также может нарушаться пластичность ЦНС (Кашуро В.А., 2003).

Проведенное исследование показало наличие изменений активности лактатдегидрогеназы и креатинкиназы в тканях головного мозга. При исследовании активности ферментов энергетического обмена было выявлено достоверное увеличение активности креатинкиназы и лактатдегидрогеназы через 1 и 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом в тканях головного мозга лабораторных животных. Лактатдегидрогеназа является одним из важнейших ферментов цитозольной фракции клетки, который участвует в процессе гликолиза, катализирует обратимую реакцию восстановления пирувата в лактат (Robinson N., 1965; Халилов Р.А. и др., 2017). В аэробных условиях пируват, подвергаясь окислительному декарбоксилированию, превращается в ацетил-КоА и затем окисляется в цикле Кребса, высвобождая значительное количество энергии (Проскурякова М.В. и др., 2015). В анаэробных условиях активность ЛДГ возрастает и пируват восстанавливается до лактата (Robinson N., 1965; Lindblom U. et al., 1967). Креатинкиназа, в свою очередь, катализирует реакцию переноса фосфорного остатка с АТФ на креатин с образованием креатинфосфата и АДФ в цитозоле клетки. Повреждение нервных клеток приводит к нарушению функции митохондрий, дисбалансу энергетических путей и к разрушению клеточных мембран (Батоцыренова Е.Г. и др., 2018). При подавлении окислительного фосфорилирования происходит увеличение активности ЛДГ и, как следствие, ускорение процессов гликолиза. Активность исследуемых ферментов была значительно выше через 3 месяца после отравления нейротоксикантами. При снижении уровня кислорода в среде в клетке активируется НАД-зависимое окисление и аэробный этап биосинтеза АТФ, это ведет к усилению энергозависимых внутриклеточных реакций и увеличению концентрации макроэргов в клетке (Schurt A., 2002). Снижение утилизации кислорода знаменует начало второй фазы компенсаторной стадии, при этом

наблюдается подавление активности I ферментного комплекса в митохондриях с перераспределением сопутствующих метаболических потоков. В результате этого клетка обеспечивает себя субстратами дыхательной цепи. Далее происходит подавление многих АТФ-зависимых специфических функций (импульсной активности нейронов) и инактивация митохондриального ферментного комплекса III. Несмотря на резкую активизацию гликолиза, наступает стадия декомпенсации, в которой отмечается линейное снижение концентрации АТФ, сопровождающееся появлением продуктов деградации адениловых нуклеотидов, усиливаются свободнорадикальные процессы и ПОЛ (Лукьянова Л.Д. 1994; Новиков В.Е. и др., 2002). При активации ПОЛ происходит повреждение мембран митохондрий за счет действия АФК, нарушается синтез АТФ и развивается ускорение анаэробного окисления. Так как дыхательная цепь является источником образования АФК, наступает патологическая связь, в которой острое тяжелое отравление служит пусковым звеном (Sahu S., 2017).

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что снижение активности антиоксидантной системы, активация ПОЛ и изменение активности ферментов энергетического обмена являются одним из пусковых механизмов отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами. Несмотря на несомненную актуальность и необходимость биохимических исследований антиоксидантного статуса организма на фоне действия стрессорных факторов, результаты, полученные с помощью данного метода, характеризуют скорее функциональное состояние организма в целом, нежели дают оценку повреждения конкретных систем. Результаты ранее проведенного исследования подтверждают данные об активации процессов апоптоза через 2 недели после острого отравления нейротоксикантами (Швецов А.В. и др., 2016). Известно, что нарушение цитопротекторной функции в результате наличия дисбаланса между АОС и ПОЛ вызывает запуск индуцирования митохондриального сигнального пути апоптоза клетки. Инициация апоптоза и последующая массовая деструкция клеточных популяций в нервной ткани сопровождаются естественной защитной реакцией клеток тканей мозга – повышением активности синтеза

нейроспецифических белков, колебания концентраций которых также позволяют оценивать степень воздействия и повреждения нервной ткани.

Уже давно доказана роль нейрогенеза в качестве естественного механизма компенсации поврежденных структур мозга, а основную регуляторную роль на всех этапах в организме выполняют нейротрофические факторы (Гомазков О.А., 2013). По изменению их концентрации можно вполне достоверно судить о наличии и степени патологических изменений в клетках головного мозга (Вакау R.A. et al., 1986). Концентрация этих пептидов в сыворотке крови зависит от проницаемости мембран, скорости их синтеза и деградации (Ingebrigtsen T. et al., 2002; Svetlov S. et al., 2009). Если предположить, что мембрана клетки не повреждена, содержание в сыворотке крови нейротрофических факторов зависит от уровня экспрессии генов, либо увеличения потребления в ходе адаптационной реакции на развившийся патологический процесс. Так, через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом выявлено уменьшение концентрации нейронспецифической енолазы, которая является маркером нарушения нейронального гликолиза. Ее снижение свидетельствует о нарушении биоэнергетики в тканях головного мозга за счет снижения аэробных процессов. Это согласуется с полученными ранее данными об усилении анаэробных процессов за счет увеличения активности ЛДГ. Концентрация основного белка миелина, фактора нейродеструкции, через 1 месяц после интоксикации увеличивалась, что может служить доказательством разрушения миелиновых оболочек нейронов (демиелинизации) и, как следствие, нарушений проводящей, трофической, защитной функций нервных окончаний (Чехонин В.П. и др., 2000). Терминали нейромедиаторных систем миелинизированы, поэтому нервный импульс по ним проходит очень быстро (50 м/с). Кроме того, миелин изолирует аксон от окружающих клеток и позволяет передавать информацию строго адресно, от одного нейрона к другому. Скорость проведения импульсов по немиелинизированным волокнам невысока (0,5 м/с). Это подтверждается полученными ранее данными о нарушении нервно-мышечного проведения в тесте «сила хвата» через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия и

фенилкарбаматом (Лисицкий Д.С. и др., 2015). Выявленные нарушения могут являться патогенетическим механизмом поражения нервной системы, которые могут проявляться в нарушении высшей нервной деятельности, в том числе изменении поведенческих реакций и когнитивных функций (Berger R.P. et al., 2006). Через 3 месяца после отравления в обеих опытных группах достоверных изменений концентраций нейротрофических факторов не выявлено. Однако восстановление части исследуемых маркеров до показателей нормы (контроля) через 3 месяца трактовать в изолированном виде как прогностически благоприятное течение некорректно без исследования изменений поведенческой и когнитивной активности.

Изменение поведенческой реакции организма на изменение условий окружающей среды является обязательным компонентом его адаптации. При этом наблюдается усиление ориентировочно-исследовательской и двигательной активности, что важно для распознавания внешних воздействий и выработки дальнейшей программы поведения (Мамылина Н.В. и др., 2013). При исследовании поведенческой активности лабораторных животных в тесте «открытое поле» через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия отмечалось наличие нарушений активно-поискового поведения, а также ориентировочно-исследовательского компонента. Эти изменения характеризовались достоверным уменьшением двигательной активности, а именно снижением количества горизонтальных перемещений, среднего пройденного расстояния, общей двигательной активности и двигательной активности на периферии в сравнении с соответствующей контрольной группой. Также наблюдалось уменьшение количества вертикальных стоек, которое свидетельствует о снижении исследовательской активности животных. Через 1 месяц после острого отравления фенилкарбаматом наблюдалась сходная динамика изменения двигательной и ориентировочно-исследовательской активности. Через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия наблюдалось достоверное снижение вертикальных стоек и общей двигательной активности в сравнении с контрольной группой. Через 3 месяца после острого отравления

фенилкарбаматом выявлено достоверное снижение количества горизонтальных перемещений, общей двигательной активности, снизилась средняя скорость перемещения и двигательная активность в центре площадки. Это свидетельствует о снижении активно-поисковой и ориентировочно-исследовательской составляющих поведения в отдаленном периоде после интоксикации.

Исследование двигательной активности животных – один из важных методов оценки функций нервной системы, используемый для оценки воздействия химических и физических агентов (Tilson H.A. et al., 1984). Крысы реагируют замиранием на новые, потенциально опасные стимулы. Эта реакция имеет неоспоримую адаптивную значимость, так как неподвижность уменьшает возможность акустического или зрительного обнаружения животного хищниками. Замирание можно вызвать широким диапазоном стимулов, при этом важно, чтобы стимульная ситуация способствовала выявлению отдельных элементов активности (Калуев А.В., 2002). Многие исследователи, анализируя поведение грызунов в «открытом поле», отмечали, что усиление тревожности является фактором, снижающим двигательную активность животных (Мамылина Н.В., 2011). В предыдущих экспериментальных работах показано, что исследовательские реакции и груминг можно вызвать слабой стимуляцией тех же самых мозговых структур, при более сильной стимуляции которых возникает реакция самостимуляции – экспериментально моделируемое положительное эмоциональное состояние удовольствия (Саркизова К.Ю. и др., 2002). При стимуляции отрицательных эмоциогенных структур «избегания – наказания» исследовательские реакции и груминг не возникали. Поэтому обнаруженное нами снижение уровня исследовательской активности у крыс через 1 и 3 месяца после острого отравления ТН и ФК являются свидетельством снижения активности (возбудимости) положительных эмоциогенных структур мозга. Данное утверждение можно рассматривать с точки зрения увеличения концентрации основного белка миелина в сыворотке крови, который является маркером разрушения миелиновых оболочек, что, в свою очередь, доказывает снижение скорости проведения нервного импульса, а также ухудшение трофики нервных

клеток (Чехонин В.П., 2000). Очевидно, что эти изменения доказывают наличие отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами.

Как было описано ранее, под когнитивными (познавательными) функциями понимаются наиболее сложные функции головного мозга, с помощью которых осуществляется процесс рационального познания мира и обеспечивается целенаправленное взаимодействие с ним (Захаров В.В. и др., 2005; Старчина Ю.А., 2017; Екушева Е.В., 2018). Одним из самых обычных изменений поведения вследствие приобретенного опыта является торможение врожденной деятельности или приобретенных навыков, которые приводят к отрицательным последствиям для организма (Schardein J.L. et al., 1989; Moser V.C., 2000; Захаров В.В. и др., 2005). Термин пассивное избегание используют для описания опытов, в которых животное обучается избегать вредных факторов путем подавления определенного поведения (Лисицкий Д.С., 2013). При исследовании когнитивных функций в тесте условная реакция пассивного избегания через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия наблюдалось снижение на 20% относительного количества обученных животных через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. По данным литературы, при обучении животных в отдаленном периоде после тяжелой интоксикации оценивается способность ЦНС к образованию условнорефлекторных связей различной сложности (Данилова Н.Н. и др., 2005). Данное снижение может говорить о негативных последствиях влияния препарата на центральную нервную систему, процессы консолидации кратковременной памяти и обучение (Лисицкий Д.С. и др., 2015). Также наблюдалось снижение на 30% относительного количества обученных животных через 24 часа после обучения в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о нарушениях процессов долговременной памяти. Метод условной реакции пассивного избегания болевого раздражения основан на выработке реакции избегания электрокожного болевого раздражения у крыс, предъявляемого в предпочитаемом грызунами темном отсе челночной камеры (Кругликов Р.И., 1981). Методики, основанные на использовании дозированного болевого подкрепления (электростимуляции), позволяют выработать условный

рефлекс активного или пассивного избегания быстро, он в меньшей мере зависит от случайных колебаний эмоционального фона и других причин (Буреш Я., 1991; Moser V.C., 2000; Лисицкий Д.С., 2013). При исследовании когнитивных функций через 1 месяц после острого отравления ФК наблюдалось снижение на 30% относительного количества обученных животных через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. Через 24 часа в экспериментальных группах наблюдалась стойкая тенденция к уменьшению времени захода в темную камеру.

Через 3 месяца после острого отравления фенилкарбаматом наблюдалось снижение относительного количества обученных животных через 2 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. Также уменьшалось относительное количество обученных животных через 24 часа после обучения в сравнении с контрольной группой. Через 24 часа в опытных группах наблюдалось уменьшение времени захода в темную камеру и времени нахождения в светлой камере, увеличение времени нахождения в темной камере в сравнении с контрольной группой. Таким образом, наблюдалось ухудшение способности животных к выработке и сохранению приобретённого навыка избегания болевого раздражителя, свидетельствующее о нарушении процессов памяти и обучения (Кругликов Р.И., 1981; Захаров В.В. и др., 2005; Лисицкий Д.С., 2013).

Проведенное экспериментальное исследование показало, что после однократного отравления нейротоксикантами в отдаленном периоде происходит нарушение высших интегративных функций ЦНС. Данное положение подтверждается развитием у экспериментальных животных тревожности, снижением эмоционального статуса как через 1 месяц, так и через 3 месяца после интоксикации. Нарушение когнитивных функций подтверждено негативным влиянием отравлений на процессы обучения и запоминания (Лисицкий Д.С., 2014).

Таким образом, на первом этапе проведенного исследования было показано наличие отдаленных последствий отравления нейротоксикантами депримирующего и судорожного действия. Были определены основные биохимические, нейротрофические маркеры, а также показатели высшей нервной



деятельности, которые изменялись через 1 и даже 3 месяца после острой тяжелой интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом и были использованы для оценки эффективности препаратов фармакологической коррекции.

В настоящее время для фармакологической коррекции острых отравлений нейротоксикантами используются препараты различных фармакологических групп, в том числе антиоксиданты, антигипоксанты, тиоловые препараты (Sparenborg S. et al., 1992; Shibuta S. et al., 1998; Шамрей В.К. и др., 2000; Jann M.W. et al., 2002; Александров М.В., 2007; Bracci M. et al., 2008; Шабанов П.Д., 2011; Lance J. et al., 2012).

На втором этапе исследования нами предложено использовать в качестве препаратов для фармакологической коррекции и лечения отдаленных последствий поражения центральной нервной системы после отравления различными нейротоксикантами цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты, который является антигипоксантом и нейропротектором (Бурбелло А.Т., 1991); сукциноильное производное мелатонина, являющееся антиоксидантом и нейропротектором (Кондрашова М.Н., 2002; Мендель В.Э. и др., 2010); белок теплового шока БТШ 70, участвующий в защите клеток от апоптоза, блокирующий пути его активации и стабилизирующий клеточные структуры (Андреева Л.И., 2002; Turturici G. et al., 2011).

Полученные результаты исследования показали, что препараты фармакологической коррекции оказывают положительное влияние на состояние антиоксидантной системы. Это вполне согласуется с их механизмом действия. Так, цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты по данным исследованной литературы является эффективным антигипоксантом и актопротектором в ряду исследованных производных виолуровой кислоты (Бурбелло А.Т., 1991). Виолуровая кислота (ВК) и ее производные являются активными антигипоксантами, по эффективности превосходя препарат амтизол (Бурбелло Ф.Т. и др., 1989; Бурбелло А.Т. 1991). Введение виолуровой кислоты при гипобарической гипоксии увеличивало время жизни мышей в 2-3 раза, при гиперкапнической – в 1,3-1,6 раза, а при гемической гипоксии, вызванной

абсолютно смертельной дозой нитрита натрия, все животные выживали (Бурбелло А.Т.; 1991). Установлено, что ВК и 2-ТВК обладают антиоксидантным действием, снижают ацидоз, стабилизируют мембраны эритроцитов (Бурбелло А.Т.; 1991). Показано, что виолуровые кислоты обладают свойством стабилизировать гемоглобин, препятствуя его окислению в метгемоглобин на моделях *in vitro* (Шугалей И.В. и др., 1993). Виолуровая кислота и ее производные обладают нейропротекторными свойствами (Бурбелло А.Т., 1991), противовоспалительной и другими видами активности (Ашкинази Р.И., 1998.).

Сукциноильное производное мелатонина – соединение мелатонина с янтарной кислотой. Мелатонин широко используется в составе лекарственных средств и биологически активных добавок в качестве естественного регулятора суточного ритма человека, который обеспечивает быстрое засыпание, качественный сон и комфортное пробуждение (Машковский М.Д., 2012). Помимо адаптогенных и хронобиотических эффектов мелатонина отмечается его антиоксидантное, антиканцерогенное, антиатеросклеротическое действие (Комаров Ф.И., 1989). Все эти данные говорят о перспективности исследования мелатонина в качестве нейропротекторного средства при повреждении ЦНС в результате отравлений различной этиологии. В свою очередь янтарная кислота в лекарственных препаратах используется в качестве активного вещества как метаболическое средство, улучшающее метаболизм и энергообеспечение тканей, уменьшающее гипоксию тканей (Кондрашова М.Н., 2002). Таким образом, данный синтезированный комплекс обладает всеми перечисленными свойствами и высокой биодоступностью.

Белки теплового шока БТШ 70 – семейство белков с молекулярной массой около 70 кДа. Наиболее широко распространены и лучше всего изучены белки теплового шока млекопитающих (Turturici G. et al., 2011). Известно, что БТШ являются универсальными молекулярными шаперонами (от англ. *chaperon* – сопровождать), т.е. белками, связывающимися с другими молекулами и в таком комплексе выполняющими определенные функции. БТШ участвуют в защите клеток от апоптоза, блокируя пути его активации и стабилизируя клеточные

структуры. Также белки теплового шока обладают цитопротекторной активностью. Так, впервые защитное действие БТШ было показано на культуре нервных клеток (Андреева Л.И., 2002). Предположительно нервные клетки поглощают и связывают БТШ 70, где он и выполняет нейропротекторную функцию, поддерживая таким образом их жизнеспособность после вредного воздействия повреждающего агента (Vigh L. et al., 1997; Андреева Л.И., 2002).

Проведенное исследование позволило показать, что реализация нейропротекторных свойств этих препаратов при использовании для коррекции отдаленных последствий острого отравления выбранными нейротоксикантами, несмотря на разный механизм их действия, патогенетически связана с устранением дисбаланса антиоксидантной системы и ПОЛ, дисбалансом между показателями нейродеструкции и нейропротекции, изменением активности ферментов энергетического обмена и, как следствие, устранением нарушений двигательной и когнитивной функций. Причем воздействие разных препаратов на состояние вышеперечисленных систем сопровождалось принципиально одинаковыми эффектами, что согласуется с результатами более ранних работ (Голиков С.Н. и др., 1986).

Применение препаратов фармакологической коррекции сопровождалось следующими эффектами:

1. Положительным влиянием на динамику концентрации восстановленного глутатиона в гемоллизате эритроцитов и тканях головного мозга отравленных животных. Применение белка теплового шока БТШ 70 повышало его концентрацию в гемоллизате эритроцитов через 3 месяца после острого отравления ТН в сравнении с контрольной группой. Однако в тканях головного мозга через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия его применение способствовало лишь частичному восстановлению глутатиона. Во всех остальных группах с фармакологической коррекцией через 1 месяц после интоксикации концентрация ВГ восстанавливалась до уровня контрольной группы.

2. Отмечалось снижение интенсивности протекания процессов перекисного окисления липидов. Так, применение цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой

кислоты через 1 месяц после отравления ТН снижало концентрацию ДК на 40% в сравнении с контрольной группой в гемолизате эритроцитов. Также после интоксикации ТН его применение снижало концентрацию МДА через 3 месяца в гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца в тканях головного мозга в сравнении с контрольными животными. Применение сукциноильного производного мелатонина через 1 месяц после острого отравления ТН позволило также снизить концентрацию вторичных продуктов ПОЛ даже в сравнении с контрольной группой. Во всех остальных группах с фармакологической коррекцией наблюдалось снижение уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ до исходного.

3. Отмечалась положительная динамика увеличения активности фермента СОД, который является первой линией защиты от негативного воздействия АФК. В гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца после отравления ТН уровень активности СОД был выше начальных показателей при применении цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты, а восстанавливался до значений контрольной группы при применении сукциноильного производного мелатонина и белка теплового шока БТШ 70 лишь через 1 месяц. Через 1 месяц после интоксикации ФК также в гемолизате эритроцитов применение всех препаратов позволяло достичь исходного уровня активности СОД. При исследовании активности СОД в тканях головного мозга через 3 месяца после интоксикации ТН при использовании белка теплового шока БТШ 70 также был достигнут уровень контрольной группы.

4. Выявлено увеличение активности ферментов восстановления глутатиона в тканях. Так, уровень активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после отравления ТН восстанавливался до начальных значений при применении препаратов сукциноильного производного мелатонина и белка теплового шока БТШ 70. В тканях головного мозга активность Г-6-ФДГ восстанавливалась в сравнении с контрольными животными через 1 и 3 месяца после острого отравления ФК и применения белка теплового шока БТШ 70. Активность глутатионредуктазы, катализирующей реакцию НАДФ•Н-зависимого

восстановления окисленного глутатиона в восстановленный (Кулинский В.И. и др., 1993), была выше через 3 месяца после интоксикации ТН в гемолизате эритроцитов в сравнении с контрольной группой при использовании препаратов цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты и сукциноильного производного мелатонина. При этом в гемолизате эритроцитов через 3 месяца после отравления ФК наблюдалось восстановление активности ГР до изначальных значений при использовании белка теплового шока БТШ 70, в тканях головного мозга через 1 месяц после острого отравления ТН при использовании цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты и сукциноильного производного мелатонина. При отравлении ФК через 1 месяц в тканях головного мозга отмечалось восстановление активности ГР до исходной.

5. Отмечалось стимулирующее влияние на активность антиоксидантных ферментов. Так, после отравления ТН при применении цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты отмечалось повышение активности ГП до уровня контроля в гемолизате эритроцитов через 1 месяц и в тканях головного мозга через 3 месяца, а после отравления ФК только в тканях головного мозга – через 1 месяц. Применение сукциноильного производного мелатонина оказывало схожий эффект в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после интоксикации ФК. При исследовании уровня активности ГТ отмечалась строгая тенденция к восстановлению уровня до контрольной группы. Однако после острого отравления ТН через 3 месяца в гемолизате эритроцитов и через 1 месяц в тканях головного мозга это удалось лишь частично на всех исследуемых препаратах.

Таким образом, применение препаратов фармакологической коррекции приводило к увеличению активности ферментов антиоксидантной защиты и снижению концентрации первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Это согласуется с данными литературы о стабилизации состояния антиоксидантной системы при фармакологической коррекции антиоксидантными препаратами при тяжелых отравлениях ксенобиотиками (Кашуро В.А. и др., 2010).

Как было отмечено ранее, исследование активности ферментов энергетического обмена также необходимо для определения тяжести нарушений, а также эффективности применения препаратов фармакологической коррекции. В связи с этим, на втором этапе исследования определялась активность креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в тканях головного мозга. Белок теплового шока БТШ 70 позволяет им достичь значений контрольной группы через 1 и 3 месяца после отравления как ТН, так и ФК. Цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты способствовал восстановлению показателей через 1 месяц после интоксикации ТН и ФК и через 3 месяца после отравления ФК (но только КК) до исходного уровня. А сукциноильное производное мелатонина позволило ЛДГ и КК достичь исходных значений лишь через 3 месяца после отравления ФК и через 1 месяц после отравления ТН (но только КК). Снижение активности ферментов энергетического обмена до уровня контрольной группы свидетельствует о восстановлении баланса между анаэробными и аэробными окислительными процессами. Это в свою очередь свидетельствует о нормализации процессов гликолиза и усилении процессов окислительного фосфорилирования (Халилов Р.А. и др., 2017).

При исследовании уровней нейротрофических факторов была выявлена нормализация их гомеостаза. Это может свидетельствовать о стабилизации баланса между факторами нейропротекции и нейродеструкции. Эти маркеры ассоциированы с признаками ранних неврологических нарушений, объемом повреждений, ранним и поздним клиническим исходом, ранними клиническими ухудшениями и т.д. (Князькова Л.Г. и др., 2008). При применении всех препаратов фармакологической коррекции наблюдалось снижение концентрации до начальных показателей белка S100, который является маркером повреждения головного мозга (Barger S.W. et al., 1992; Fanò G. et al., 1995; Donato R., 2001). Он отвечает за связывание ионов  $Ca^{2+}$  и, как следствие, кальций-зависимое специфическое межмолекулярное взаимодействие с другими белками, сопровождающееся изменением конформации белковых молекул. В результате ассоциации/диссоциации молекул S100 и ионов  $Ca^{2+}$  происходит изменение

концентрации кальция в клетке, что определяет процесс перестройки и диссоциации микротрубочек (Bottiger V.W. et al., 2001). Таким образом, S100 косвенно характеризует состояние обмена  $Ca^{2+}$  (Полетаев А.Б., 1984). При исследовании концентрации NSE в группах отравленных тиопенталом натрия и получавших сукциноильное производное мелатонина и белок теплового шока БТШ 70 наблюдалось увеличение до показателей контрольной группы. Известно, что NSE является маркером всех дифференцированных нейронов и нарушения нейронального гликолиза при шизофрении, сенильной деменции и болезни Альцгеймера (Бурбаева Г.Ш., 1992). Установлена закономерность понижения активности NSE в различных структурах больных с психическими заболеваниями, что выступает следствием энергетического дефицита в ткани мозга этих пациентов (Преображенская И.С. и др., 2001; Chekhonin V.P. et al., 2004). Концентрация маркера разрушения миелиновых оболочек – MBP во всех группах с фармакологической коррекцией достигала значений контрольной группы. Это маркер повреждения олигодендроцитов, которые представляют собой группу глиальных клеток, локализующихся в центральной нервной системе и участвующих в миелинизации аксонов ЦНС (Kärkelä J. et al., 1993). Олигодендроцит наматывает свою мембрану вокруг нескольких аксонов нервных клеток, обеспечивает их изоляцию, образуя многослойную миелиновую оболочку, и возможность быстрого проведения нервного импульса (Mondello S. et al., 2011). Эксперименты на животных показали, что блокирование этого белка антителами вызывает воспалительный процесс в мозге, демиелинизацию и паралич конечностей (Маркелова Е.В. и др., 2018). В связи с этим снижение концентрации основного белка миелина является прогностически благоприятным признаком. Наиболее выраженное повышение концентраций PEDF после применения сукциноильного производного мелатонина подтверждает возможность эффективного применения средств, способных опосредованно регулировать процессы программированной клеточной гибели (Кашуро В.А. и др., 2013). Интересные данные получены при изучении концентрации мелатонина. Он рассматривается как нейропротективный агент и ловушка свободных радикалов,

которые инициируя процессы окисления липидов, участвуют в инициации деструктивных процессов в клетке (Wang X. et al., 2009). Увеличение концентрации мелатонина в разы через 1 месяц после отравления ТН и ФК при применении цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты и белка теплового шока БТШ 70 свидетельствует как об увеличении потенциала антиоксидантной защиты, так и о компенсации внутреннего десинхроноза, вызванного интоксикацией и приводящего к нарушению гомеостаза многих внутриклеточных процессов (Reiter R.J. et al., 2002; Wang X. et al., 2009). Таким образом, применение препаратов фармкоррекции сыграло протективную роль для клеток центральной нервной системы, но о полной стабилизации возможно говорить только после исследования состояния высшей нервной деятельности.

Изучение поведенческой активности показало, что ориентировочно-исследовательская реакция, выражаемая в количестве стоек и горизонтальной двигательной активности, устойчивость нервных процессов, отражаемых по времени посещения центральных квадратов при применении всех препаратов фармакологической коррекции достигала значений контрольной группы (Маркель А.Л.; 1981). Лучшим выражением уменьшения негативного влияния интоксикации на ЦНС у животных является исследование ими внутренних квадратов и увеличение двигательной активности (Лисицкий Д.С., 2013). Двигательная активность в центре площадки восстанавливалась до уровня контрольной группы при использовании всех препаратов фармкоррекции. Так, при применении цинкового комплекса 1-бутилвиолуровой кислоты отмечалось увеличение количества горизонтальных перемещений, среднего пройденного расстояния, средней скорости, общей двигательной активности и двигательной активности в центре площадки до уровня контрольных животных через 1 месяц после отравления ФК. Через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия отмечалось уменьшение количества актов груминга при использовании всех препаратов фармкоррекции. Это можно трактовать в данном случае как снижение эмоционального статуса животных и снижение пассивно-оборонительного компонента (Бахтиярова Ш.К. и др., 2017). Таким образом, применение



препаратов фармакологической коррекции приводило к восстановлению показателей двигательной активности экспериментальных животных, что свидетельствует о снижении негативного влияния последствий воздействия токсиканта на поведенческие реакции.

При исследовании когнитивных функций лабораторных животных в тесте УРПИ через 1 месяц после острого отравления ТН максимальный положительный эффект оказал цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты. Наблюдалось как увеличение времени нахождения в светлой камере через 2 и 24 часа, так и уменьшение времени нахождения в темной камере через 2 и 24 часа до показателей контрольной группы. В данном тесте животное обучается избегать вредных факторов путем подавления определенного поведения (Касенов Б.Ж. и др., 2016; Старчина Ю.А., 2017). В данном случае наблюдается положительная реакция избегания болевого раздражителя (Лисицкий Д.С., 2013). При применении всех препаратов фармкоррекции в тесте УРПИ через 3 месяца было выявлено увеличение времени нахождения в светлой камере, уменьшение времени нахождения в темной камере и увеличение относительного количества обученных животных на 50% через 2 и 24 часа после обучения до показателей контрольной группы. Через 3 месяца при применении всех препаратов результаты обучения превзошли показатели контрольной группы – увеличилось относительное количество обученных животных через 2 и 24 часа после обучения. Это свидетельствует о сохранении памятного следа – улучшении консолидации кратковременной и долговременной памяти (Титович И.А. и др., 2017).

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование показало, что состояние антиоксидантной системы и ПОЛ в эритроцитах отравленных животных отражает истощение резервов данной биохимической системы в других тканях, а поэтому, как показатель цитотоксичности, становится информативным при оценке наличия отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами (Кашуро В.А., 2003). В связи с тем, что нарушения состояния антиоксидантной системы и ПОЛ в тканях головного мозга занимают важнейшее

место в патогенезе острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом, наличие сходных изменений в гемолизате эритроцитов приобретает важнейшее диагностическое значение. Действительно, динамика таких показателей в эритроцитах, как концентрация ВГ, ДК, МДА, активность Г-6-Ф-ДГ, ГР, ГП и ГТ максимально соответствовала динамике этих показателей в тканях головного мозга при отравлениях ТН и ФК, а также при фармакологической коррекции. Достаточно точным критерием наличия отдаленных последствий и положительного влияния препаратов фармкоррекции явилось определение активности ферментов энергетического обмена (ЛДГ и КК) в тканях головного мозга. При интоксикации она значительно повышается, а при лечении – снижается, что отражает интенсификацию процессов окислительного фосфорилирования (Батоцыренова Е.Г. и др., 2018). Нейротрофические маркеры в комплексе весьма информативны – показатели нейродеструкции (МВР, S100) и показатели нейропротекции (NSE, мелатонин) необходимо определять совместно для получения более полной картины последствий отравления нейротоксикантами, а также оценки эффективности лечения препаратами фармакологической коррекции. Оценка двигательной и поведенческой функций. Доказывает наличие скрытой патологии нервной системы (Калуев А.В., 2002; Екушева Е.В., 2018). Все исследованные препараты доказали свою эффективность в лечении отдаленных последствий отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом.

Таким образом, комплексный подход с изучением показателей антиоксидантной системы и ПОЛ, активности ферментов энергетического обмена, определением концентраций нейротрофических факторов и исследования поведения показывает полную картину поражения нервной системы в отдаленном периоде после острых отравлений нейротоксикантами и может служить для оценки эффективности препаратов фармакологической коррекции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное экспериментальное исследование подтверждает участие антиоксидантной системы, ПОЛ, ферментов энергетического обмена и нейротрофических факторов в патогенезе отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами.

Анализ полученных результатов показал, что характер изменений изученных биохимических показателей в исследуемых тканях при отравлении нейротоксикантами с различным механизмом действия имеет одинаковую направленность и неспецифический характер, что согласуется с данными литературы (Лужников Е.А., 1982; Голиков С.Н. и др., 1986; Катаманова Е. В., 2012; Нельсон Д., 2017).

При исследовании изменений показателей состояния антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов и тканях головного мозга были получены данные, свидетельствующие о снижении активности системы антирадикальной защиты (Кашуро В.А., 2003). Вследствие интоксикации наступает сдвиг баланса между про- и антиоксидантными системами отравленных животных в пользу первой. Согласно современным представлениям, нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза клетки, проявляющееся в увеличении скорости свободнорадикальных процессов и генерации большого количества активных форм кислорода, приводит к окислительному стрессу (Новиков В.Е. и др., 2014). В результате проведенного исследования установлено, что повреждения системы глутатиона, занимающие ведущее место в реализации механизмов цитотоксического действия при острых отравлениях ксенобиотиками, так же регистрируются в отдаленном периоде после тяжелой интоксикации тиопенталом натрия и фенилкарбаматом. Уменьшение концентрации ВГ сопровождалось существенным снижением активности глутатион-S-трансферазы. По нашим данным, концентрация первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгат была в 1,5-2 раз выше контрольных показателей во всех экспериментальных группах и обеих временных точках, что свидетельствует о

нарушении перекисно-антиоксидантного баланса как пусковом звене отдаленных повреждений в клетках крови (Кашуро В.А., 2003). Аналогичные изменения АОС выявлялись в тканях головного мозга отравленных животных, при этом 15-25%-ное снижение активности глутатион-S-трансферазы сопровождалось увеличением на 33-40% активности глутатионпероксидазы через 3 месяца после интоксикации.

Достаточно точным критерием наличия отдаленных последствий и положительного влияния препаратов фармакоррекции явилось определение активности ферментов энергетического обмена (ЛДГ и КК) в тканях головного мозга. Так, активность ЛДГ и КК значительно повышалась при интоксикации и поддерживалась на высоком уровне в течение 1-3 месяцев после отравления ТН и ФК. Увеличение активности ЛДГ и КК является механизмом адаптивной реакции в ответ на увеличение потребности в АТФ в тканях головного мозга (Проскурякова М.В. и др., 2015). При фармакоррекции их активность снижалась до контрольного уровня, свидетельствуя об эффективности тестируемых препаратов антигипоксанта и антиоксидантного действия в восстановлении баланса между аэробными окислительными процессами и анаэробным гликолизом (Батоцыренова Е.Г. и др., 2018).

Исследование нейротрофических маркеров также оказалось весьма информативным – изменение концентрации показателей нейродеструкции (МВР, S100) и нейропротекции (NSE, мелатонин) в сыворотке крови выявило картину долгосрочных патологических изменений мозга в результате отравления нейротоксикантами, а также возможность их предотвращения препаратами фармакологической коррекции с нейропротекторным действием (Вакау R.A. et al., 1986; Гомазков О.А., 2013). Результаты исследования изменения концентрации нейротрофических маркеров также указывают на патологические изменения в тканях головного мозга отравленных животных. Так, через 1 месяц после острого тяжелого отравления ТН и ФК концентрация нейронспецифической енолазы, маркера всех дифференцированных нейронов, была на 27% ниже контрольных значений, свидетельствуя о возможном нарушении нейронального гликолиза. В этот же период наблюдения концентрация МВР, фактора нейродеструкции,

увеличивалась почти в 3 раза после отравления ТН и на 36% после отравления ФК, что может служить доказательством разрушения миелиновых оболочек нейронов (Чехонин В.П. и др., 2000). Достоверное увеличение концентрации гликопротеина PEDF, обладающего нейропротекторной и нейротрофической активностью, зарегистрировано через 1 месяц после интоксикации, свидетельствует об адаптивной реакции организма на повреждение нервной ткани после отравления нейротоксикантами (Кашуро В.А. и др., 2013).

Решающую роль в выявлении отдаленных последствий отравлений играет оценка двигательной и поведенческой функций (Berger R.P. et al., 2006). Изменения в поведении доказывают наличие скрытой патологии нервной системы, часто не принимаемой во внимание при распространенных бытовых отравлениях (Лисицкий Д.С., 2014). Используя поведенческий и когнитивный тесты, нами было показано положительное влияние исследованных препаратов фармакоррекции для восстановления высших интегративных функций ЦНС в отдаленном периоде после отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом. Изучение поведения лабораторных животных в тесте «открытое поле» через 1 месяц после острого тяжелого отравления ТН выявило уменьшение двигательной активности, а именно снижение горизонтальных перемещений и общей двигательной активности по сравнению с контролем. Также достоверно уменьшалось число вертикальных стоек, указывая на подавление исследовательской активности (Мамылина Н.В., Павлова В.И., 2013). При отравлении ФК наблюдались аналогичные изменения двигательной и ориентировочно-исследовательской активности. Более выраженное снижение поведенческой активности животных регистрировались через 3 месяца после интоксикации ТН и ФК, что, по-видимому, свидетельствует о глубоком нарушении активности положительных эмоциогенных структур мозга (Саркизова К.Ю. и др., 2002). При исследовании когнитивных функций в тесте «условная реакция пассивного избегания» установлено, что через 1 месяц после острого тяжелого отравления ТН число обученных животных было на 20% и 30% ниже, чем в контрольной группе спустя 2 и 24 часа после обучения. В аналогичном

периоде после отравления ФК наблюдалось 30%-ное снижение числа обученных животных по сравнению с контролем через 2 часа после обучения. Аналогичные нарушения когнитивных функций отмечены через 3 месяца после отравления нейротоксикантами. Это свидетельствует о негативных последствиях влияния острых отравлений на процессы консолидации как кратковременной, так и долговременной памяти (Захаров В.В., Яхно Н.Н., 2005; Лисицкий Д.С., 2013).

Проведенное экспериментальное исследование показало, что состояние антиоксидантной системы и ПОЛ в эритроцитах отравленных животных отражает истощение резервов данной биохимической системы в других тканях, а поэтому, является информативным при оценке наличия отдаленных последствий острых отравлений нейротоксикантами. В связи с тем, что нарушения состояния антиоксидантной системы и ПОЛ в тканях головного мозга занимают важное значение в патогенезе острых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом, наличие сходных изменений в гемолизате эритроцитов приобретает важнейшее диагностическое значение (Кашуро В.А., 2003). Действительно, динамика таких показателей в эритроцитах, как концентрация ВГ, ДК, МДА, активность Г-6-Ф-ДГ, ГР, ГП и ГТ максимально соответствовала динамике этих показателей в тканях головного мозга при острых отравлениях ТН и ФК, а также при фармакологической коррекции.

В ходе исследования была установлена эффективность проводимой фармакоррекции для устранения дисбаланса между про- и антиоксидантной системами; нормализации активности ферментов энергетического обмена и, как следствие, активации окислительного фосфорилирования; устранения нарушений баланса нейротрофических факторов; нормализации двигательной и исследовательской активности животных, улучшения кратковременной и долговременной памяти в отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений нейротоксикантами. Обоснована необходимость комплексного изучения показателей антиоксидантной системы и ПОЛ, активности ферментов энергетического обмена, определением концентрации нейротрофических факторов и исследованием поведения для понимания механизмов поражения ЦНС

в отдаленном периоде после отравлений нейротоксикантами, а также правильного выбора препаратов фармакологической коррекции.

## ВЫВОДЫ

1. В отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом выявлено выраженное нарушение баланса антиоксидантной системы (достоверное снижение концентрации восстановленного глутатиона до 46% через 1 месяц и снижение активности фермента глутатион-S-трансферазы до 45% через 3 месяца), интенсификация процессов перекисного окисления липидов (достоверное увеличение концентрации малонового диальдегида до 32% через 3 месяца и диеновых конъюгат до 58% через 1 месяц).

2. Активацию ферментов энергетического обмена (достоверное увеличение активности лактатдегидрогеназы до 47,2% и креатинкиназы до 92,8% через 3 месяца) в отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом можно рассматривать как адаптивную реакцию организма на повышенные потребности в макроэргических соединениях для обеспечения восстановительных процессов в тканях ЦНС.

3. Через 1 месяц после острых тяжелых отравлений тиопенталом натрия и фенилкарбаматом выявлено выраженное нарушение баланса нейротрофических факторов головного мозга (достоверное увеличение концентрации МВР до 2,7 раз и PEDF до 19,4%). Данные изменения указывают на наличие взаимосвязи между нарушением обмена нейротрофических факторов и реализацией отдаленных последствий отравлений нейротоксикантами.

4. Острые тяжелые отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом приводили в отдаленном периоде к нарушению поведенческих функций. В тесте «Открытое поле» отмечалось нарушение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в обеих временных точках, что свидетельствует о развитии тревожности и стрессированности у животных.

5. Острые тяжелые отравления тиопенталом натрия и фенилкарбаматом приводили в отдаленном периоде к нарушению когнитивных функций. В тесте «Условная реакция пассивного избегания» наблюдалось снижение



относительного количества обученных животных через 2 и 24 часа после обучения, что свидетельствует о замедлении процессов обучения и запоминания, нарушении процессов долговременной и кратковременной консолидации памятного следа.

6. Препараты различных фармакологических свойств: цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты, сукциноильное производное мелатонина и белок теплового шока БТШ 70, воздействуя на различные звенья патогенеза отдаленных последствий острых тяжелых отравлений нейротоксикантами (нарушение баланса антиоксидантной системы, активация свободнорадикального окисления, нарушение баланса нейротрофических факторов и энергетического обмена) приводили к снижению степени повреждения антиоксидантной системы, интенсивности перекисного окисления липидов, нормализации обмена нейротрофических факторов.

7. Изменение ряда показателей антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов (внутриклеточный дефицит восстановленного глутатиона, снижение активности глутатион-S-трансферазы, увеличение концентрации диеновых конъюгат и малонового диальдегида), нейротрофических факторов (снижение концентрации NSE и увеличение концентрации MBP), определяемых в крови, отражает состояние этих систем в тканях головного мозга. Эти показатели, определяемые в крови, могут рассматриваться как перспективный лабораторный метод диагностики поражения клеток центральной нервной системы в отдаленном периоде после острых тяжелых отравлений нейротоксикантами.

## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В схему лечения отдаленных последствий острого тяжелого отравления нейротоксикантами рекомендуется включить препараты, обладающие антигипоксантным, нейропротекторным и антиапоптотическим эффектами, улучшающие энергетический обмен в тканях ЦНС.

2. Для подтверждения наличия отдаленных последствий отравления различными нейротоксикантами, а также для прогнозирования исхода лекарственной терапии и последующей тактики ведения пациента рекомендуется определение в крови клинико-лабораторных показателей (концентрация восстановленного глутатиона, активность глутатион-S-трансферазы, концентрация диеновых конъюгат и малонового диальдегида, концентрация NSE и МВР).

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективным представляется дальнейшее изучение эффективности препаратов фармакологической коррекции в отдаленном периоде после острых отравлений нейротоксикантами. Оценить эффективность препаратов с помощью изучения морфологической картины изменений в тканях головного мозга и уровень апоптоза каспаз-3,-9, белков bcl-2, p53 с помощью методов иммуногистохимии. А также изучение специфической активности изучаемых соединений и их безопасности для подготовки регистрационного досье на препараты и получения разрешения для их клинических испытаний.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- АТФ – аденозинтрифосфат  
АДФ – аденозиндифосфат  
АОЗ – антиоксидантная защита  
АОС – антиоксидантная система  
АФК – активные формы кислорода  
АХЭ – антихолинэстераза  
БТШ 70 – белок теплового шока  
ВГ – восстановленный глутатион  
ВК – виолуровая кислота  
ГАМК – гаммааминомаслянная кислота  
ГП – глутатионпероксидаза  
ГР – глутатионредуктаза  
ГТ – глутатион-S-трансфераза  
Г-6-ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа  
ДК – диеновые конъюгаты  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
ДТНБ – 5,5-дитио-бис (-2-нитробензойной) кислота  
Ед. акт./г – единицы активности/грамм  
КК – креатинкиназа  
ЛДГ – лактатдегидрогеназа  
МДА – малоновый диальдегид  
НАДФ·Н – никотинамид-β-аденин динуклеотид фосфат  
ОС – окислительный стресс  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
СОД – супероксиддисмутаза  
СРО – свободно-радикальное окисление  
ТБК – тиобарбитуровая кислота  
ТН – тиопентал натрия

уд/мин – ударов в минуту

УРПИ – условная реакция пассивного избегания

ФОС – фосфорорганические соединения

ФК – фенилкарбамат – (2-(диметиламинометил) фениловый эфир диметилкарбаминовой кислоты

ЦНС – центральная нервная система

ЧМТ – черепно-мозговая травма

ЧСС – частота сердечных сокращений

BDNF – нейротрофический фактор головного мозга (Brain Derived Neurotrophic Factor)

СК-BB – креатинкиназа, содержащаяся в нервной ткани

GFAP – глиальный фибриллярный кислый протеин (Glial Fibrillary Acidic Protein)

KSE-02 – сукциноильное производное мелатонина

KZ-03 – цинковый комплекс 1-бутилвиолуровой кислоты

MBP – основной белок миелина (Myelin Basic Protein)

MT – мелатонин (Melatonin)

NSE – нейронспецифическая енолаза (Enolase, Neuron Specific)

PEDF – пигментный фактор эпителиального происхождения (Pigment Epithelium Derived Factor)

S100 – кальций связывающий белок

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александров, М. В. Специфичность и системность действия психоактивных веществ на биоэлектrogenез / М. В. Александров // Количественная ЭЭГ и нейротерапия : материалы Всероссийской науч.-практ. конф., 15–16 окт. 2007 г. – Санкт-Петербург, 2007. – С. 114.
2. Андреева, Л. И. Теоретическое и прикладное значение белков теплового шока 70 кДа; возможность практического применения и фармакологической коррекции / Л. И. Андреева // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 2–14.
3. Ахапкина, В. И. Эффективность фенотропии при лечении астенического синдрома и синдрома хронической усталости / В. И. Ахапкина, А. И. Федин, А. С. Аведисова, Р. В. Ахапкин // Нервные болезни. – 2004. – № 3. – С. 28–32.
4. Ахматханова, С. М. Алкогольная энцефалопатия: современные методы лечения / С. М. Ахматханова, Ю. А. Казакова, С. М. Карпов, П. П. Шевченко // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 6. – С. 22–23.
5. Ашмарин, И. П. Нейрохимия / И. П. Ашмарин, А. Е. Антипенко, В. В. Ашапкин; под. ред. И. П. Ашмарина, П. В. Стукалова. – Москва : Институт биомед. химии РАМН, 1996. – 470 с.
6. Батоцыренова, Е. Г. Сигнальная функция активных форм кислорода при интоксикации тиопенталом натрия / Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро, Л. В. Минаева [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки. – 2014. – Т. 16, № 5(4). – С. 1376–1379.
7. Батоцыренова, Е. Г. Фармакотерапия нарушений энергетического обмена и антиоксидантной системы при десинхронозе / Е. Г. Батоцыренова, К. А. Краснов, Т. А. Кострова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81., № 5. – С. 25.
8. Батоцыренова, Х. В. Использование цитофлавина в профилактике и лечении когнитивно-мнестических нарушений у больных с тяжелым

токсикогипоксическим поражением головного мозга / Х. В. Батоцыренова, Г. А. Ливанов, Г. В. Шестова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 9. – С. 28–31.

9. Бахтиярова, Ш. К. Поведение животных в различных тестах / Ш. К. Бахтиярова, У. Н. Капышева, Н. Т. Аблайханова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 8(1) – С. 92–96.

10. Башарин, В. А. Экспериментальная оценка состояния системы глутатиона и перекисного окисления липидов в различных органах и тканях при острых отравлениях 1,1-диметилгидразином и фенилгидразином : спец. 14.00.20 «Токсикология», 03.00.03 «Молекулярная биология» : дис. ... канд. мед. наук / Башарин Вадим Александрович. – Санкт-Петербург, 2001. – 174 с.

11. Белова, М. В. Окислительный стресс при наиболее распространенных острых отравлениях : спец. 14.03.03 «Патологическая физиология» : дис. ... д-ра биол. наук / Белова Мария Владимировна. – Москва, 2015. – 266 с.

12. Белоусов, Ю. Б. Терапевтический лекарственный мониторинг противовирусных препаратов / Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич, Г. И. Сторожаков // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2004. – № 1(1). – С. 47–49.

13. Береговская, Н. Н. Энерготранспортное фосфорилирование. Биофизические аспекты / Н. Н. Береговская // Нарушения биоэнергетики в патологиях и пути их восстановления. Москва : Наука, – 1993. – С.11–20.

14. Биленко, М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения / М. В. Биленко. – Москва : Медицина, 1989. – 368 с.

15. Бонитенко, Е. Ю. Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами. Часть 1 / Е. Ю. Бонитенко, Ю. Ю. Бонитенко, Е. С. Бушуев [и др.]. / под ред. Ю. Ю. Бонитенко, С. П. Нечипоренко. – Санкт-Петербург : ЭЛБИ-СПб, 2010. – 440 с.

16. Борисевич, С. Н. Лабораторная диагностика острых отравлений барбитуратами / С. Н. Борисевич, О. М. Вергун, А. А. Шмигельский // Здравоохранение. – 2011. – № 4. – С. 52–55.

17. Бурбаева, Г. Ш. Физиологически активные белки мозга как возможные маркеры психических заболеваний / Г. Ш. Бурбаева // Вестник РАМН. – 1992. – № 7. – С. 51–54.

18. Бурбелло, А. Т. Производные барбитуровой кислоты – новый класс соединений для лечения и профилактики отравлений нитросоединениями : спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» : автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / Бурбелло Александра Тимофеевна. – Санкт-Петербург, 1991. – 44 с.

19. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш. – Москва : Высшая школа, 1991. – 399 с.

20. Васильев, С. А. Нейрометаболическая терапия острых тяжелых отравлений : спец. 14.00.20 «Токсикология», 14.00.37 «Анестезиология и реаниматология» : дис. ... д-ра мед. наук / Васильев Сергей Анатольевич. – Санкт-Петербург, 2008. – 211 с.

21. Васильев, С. А. Особенности организации оказания реаниматологической помощи больным в критическом состоянии с острыми отравлениями / С. А. Васильев, Г. А. Ливанов, Б. В. Батоцыренов // Медицинский алфавит. Неотложная медицина. – 2013. – № 2. – С. 49.

22. Великородная, Ю. И. Нейротоксические эффекты в центральной нервной системе при хронической интоксикации фосфорорганическими соединениями (экспериментальное исследование) / Ю. И. Великородная, Н. И. Мамулайшвили, А. Я. Почепцов // Вестник ВолГМУ. – 2013. – № 3(47). – С. 56–61.

23. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 12, № 6. – С. 13–19.

24. Воздействие на организм человека опасных и вредных экологических факторов. Метрологические аспекты. В 2 т. Т. 1 / под ред. Л. К. Исаева. – Москва : ПАИМС, 1997. – 512 с.

25. Гаврилов, В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.



Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. – 1987. – №1. – С. 118–122.

26. Гаврилов, В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // Лабораторное дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.

27. Гигиенические критерии состояния окружающей среды № 64. Карбаматные пестициды: общее введение. Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 1991. – 128 с.

28. Глушков, С. И. Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия : спец. 14.00.20 «Токсикология», 03.00.04 «Биохимия» : дис. ... д-ра мед. наук / Глушков Сергей Иванович. – Санкт-Петербург, 2007. – 451 с.

29. Глушков, С. И. Состояние глутатионзависимой антирадикальной системы и процессов перекисного окисления липидов в различных тканях лабораторных животных при острых отравлениях тиопенталом натрия / С. И. Глушков, С. А. Куценко, Г. А. Ливанов [и др.] // Токсикологический вестник. – 2002. – № 1. – С. 11–16.

30. Голиков, С. Н. Неотложная помощь при острых отравлениях (справочник по токсикологии) / С. Н. Голиков. – Москва : «Медицина», 1978. – 312 с.

31. Голиков, С. Н. Общие механизмы токсического действия / С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов. – Ленинград : Медицина, 1986. – 279 с.

32. Головкин, А. И. Токсикология ГАМК-литиков / А. И. Головкин, С. И. Головкин, С. Ю. Зефирова, Г. А. Софронов. – Санкт-Петербург : «Нива», 1996. – 144 с.

33. Гомазков, О. А. Нейрогенез как адаптивная функция взрослого мозга / О. А. Гомазков // Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133, № 4. – С. 349–366.

34. Горская, М. Н. Судебно-медицинские аспекты отравления фенобарбиталом : спец. 14.00.24 – «Судебная медицина» : дис. ... канд. мед. наук / Горская Марина Николаевна. – Санкт-Петербург, 1992. – 198 с.

35. Горский, А. А. О состоянии условий труда и профессиональной заболеваемости работников в Российской Федерации / А. А. Горский, Е. С. Почтарева, В. А. Пилишенко [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. – 2014. – № 2(251). – С. 8–11.

36. ГОСТ 33044 – 2014. Принципы надлежащей лабораторной практики : дата введ. 2015-08-01. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 11 с.

37. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. – 2012.

38. Григорьев, Е. В. Маркеры повреждения головного мозга при тяжелой сочетанной травме / Е. В. Григорьев, Е. А. Каменева, Т. Г. Гришанова [и др.] // Общая реаниматология. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 71–74.

39. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – Москва : Медицина, 2001. – 328 с.

40. Данилова, Н. Н. Физиология высшей нервной деятельности – Учебник для студентов ВУЗов / Н. Н. Данилова, А. Л. Крылова. – Ростов на Дону : «Феникс», 2005. – 478.

41. Дементьева, И. И. Биохимические маркеры в диагностике ишемического поражения мозга / И. И. Дементьева, Ю. А. Морозов, А. М. Исаева // Справочник заведующего КДЛ. – 2012. – № 7. – С. 47–53.

42. Диксон, М. Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. Москва : Мир, – 1982. – 1118 с.

43. Долго-Сабуров, В. Б. Роль холинореактивных систем в регуляции генетического аппарата клетки / В. Б. Долго-Сабуров // Фармакология и токсикология. – 1982. – № 1. – С. 5–10.

44. Дорофейков, В. В. Новые подходы к оценке повреждений головного мозга у спортсменов / В. В. Дорофейков, С. М. Ашкинази, В. А. Бухарин [и др.] // Теория и практика физической культуры. – 2016. – № 10. – С. 45–47.

45. Дубинина, Е. Е. Биологическая роль супероксиданион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма / Е. Е. Дубинина // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 108, № 1(4). – С. 3–17.

46. Дюкова, Г. М. Астенический синдром: проблемы диагностики и терапии / Г. М. Дюкова // Лечение заболеваний нервной системы. – 2012. – Т. 2, № 2(10). – С. 8–14.

47. Екушева, Е. В. Когнитивные нарушения – актуальная междисциплинарная проблема / Е. В. Екушева // Регулярные выпуски «РМЖ». – 2018. – № 12(1). – С. 32–37.

48. Ермолов, А. С. Гипербарическая оксигенация как метод интенсивной терапии при острых экзогенных отравлениях / А. С. Ермолов, Н. М. Епифанова, М. В. Ромасенко // Анестезиология и реаниматология. – 1998. – № 6. – С. 16–19.

49. Зайцева, К. А. Сравнительное влияние пирозидола и имизина на ЭКГ и некоторые другие показатели сердечной деятельности / К. А. Зайцева // Фармакология и токсикология. – 1977. – № 4. – С. 400–403.

50. Захаров, В. В. Когнитивные нарушения у пациентов с болезнью паркинсона / В. В. Захаров, Н. Н. Яхно // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2005. – Т. 105, № 1. – С. 13–19.

51. Зобнин, Ю. В. Острые токсические нейропатии / Ю. В. Зобнин // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 106–110.

52. Зозуля, Ю. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю. А. Зозуля, В. А. Барабой, Д. А. Сутковой. – Москва : Знание-М, 2000. – 344 с.

53. Калмансон, М. Л. Гипоксия и её коррекция у больных с острыми отравлениями ядами нейротропного действия : спец. 14.03.04 «Токсикология» : дис. ... д-ра мед. наук / Калмансон Михаил Львович. – Санкт-Петербург, 2001. – 251 с.

54. Калуев, А. В. Груминг и стресс. / А. В. Калуев. – Москва : Авикс, 2002. – 161 с.

55. Касенов, Б. Ж. Способность к обучению у крыс при отравлении свинцом и кадмием [Электронный ресурс] / Б. Ж. Касенов, М. К. Балабекова, Д. А. Ахмедшина, В. В. Трубачев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24443>.

56. Каспаров, В. А. Применение пестицидов за рубежом / В. А. Каспаров, В. К. Промоненков. – Москва : ВО Агропромиздат, 1990. – 224 с.

57. Катаманова, Е. В. Нарушения функциональной активности мозга при профессиональном воздействии нейротоксикантов : спец. 14.02.04 «Медицина труда» : дис. ... д-ра мед. наук / Катаманова Елена Владимировна. – Иркутск, 2012. – 295 с.

58. Кашуро, В. А. Динамика содержания нейротрофических факторов головного мозга при экспериментальной коме у крыс / В. А. Кашуро, Е. Г. Батоцыренова, Н. Л. Елаева [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2013. – № 94(5). – С. 695–699.

59. Кашуро, В. А. Изучение нейротрофических маркеров при острых тяжелых отравлениях этанолом / В. А. Кашуро, Е. Г. Батоцыренова, М. Б. Иванов, С. В. Степанов, Е. Б. Скоморохова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 5. – С. 31.

60. Кашуро, В. А. Изучение роли антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в патогенезе тиопенталовой комы / В. А. Кашуро, В. Б. Долго-Сабуров, С. Г. Дагаев [и др.] // Химическая и биологическая безопасность. – 2012. – № 5. – С. 3–7.

61. Кашуро, В. А. Некоторые механизмы нарушения биоэнергетики и оптимизация подходов к их фармакотерапии / В. А. Кашуро, В. Б. Долго-Сабуров, В. А. Башарин [и др.] // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2010. – Т. 11., № 2. – С. 611–634.

62. Кашуро, В. А. Система глутатиона и перекисное окисление липидов в патогенезе острых тяжелых интоксикаций циклофосфаном : спец. 14.00.20

«Токсикология», 03.00.04 «Биохимия» : дис. ... канд. мед. наук / Кашуро Вадим Анатольевич. – Санкт-Петербург, 2003. – 209 с.

63. Кашуро, В. А. Состояние системы глутатиона в тканях печени крыс при острых отравлениях циклофосфаном / В. А. Кашуро, С. И. Глушков, С. А. Куценко [и др.] // Токсикологический вестник. – 2003. – № 4. – С. 25–30.

64. Кашуро, В. А. Состояние системы глутатиона и перекисного окисления липидов в тканях печени и почек крыс при острых отравлениях циклофосфаном / В. А. Кашуро, А. И. Карпищенко, С. И. Глушков [и др.] // Нефрология. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 81–85.

65. Кения, М. В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М. В. Кения, А. И. Лукаш, Е. П. Гуськов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 456–470.

66. Кларк, Дж. М. Токсическое действие кислорода / Дж. М. Кларк. – Медицинские проблемы подводных погружений: пер. с англ. – Москва : Мир, 1988. – С. 205–211.

67. Князькова, Л. Г. Специфические белки нервной ткани в оценке повреждения мозга при операциях на дуге аорты в условиях длительных гипотермических перфузиию / Л. Г. Князькова, Т. А. Могутнова, С. Л. Захаров [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2008. – № 2. – С. 29–33.

68. Колчинская, А. З. О классификации гипоксических состояний / А. З. Колчинская // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1981. – № 4. – С. 3–10.

69. Кондрашова, М. Н. Гормоноподобное действие янтарной кислоты / М. Н. Кондрашова // Вопросы Биологии, Медицины, Фарм. Химии. – 2002. – № 1 – С. 7–12.

70. Кравченко, Е. В. Оригинальный ноотропный и нейропротективный препарат ноопепт усиливает противосудорожную активность вальпроата у мышей / Е. В. Кравченко, И. В. Понтелеева, С. С. Трофимов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, № 6. – С. 15–17.

71. Краснов, В. Н. Психоорганический синдром как предмет нейропсихиатрии / В. Н. Краснов // Доктор.Ру. – 2011. – № 4(63). – С. 34–42.

72. Кругликов, Р. И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти / Р. И. Кругликов. – Москва : «Наука», 1981. – 211 с.

73. Кулинский, В. И. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, № 1. – С. 107–122.

74. Курдиль, Н. В. Особенности острых отравлений пестицидами в условиях города / Н. В. Курдиль, И. С. Зозуля, О. В. Иващенко // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Т. 66, № 3. – С. 37–42.

75. Курдиль, Н. В. Особенности острых отравлений пестицидами в условиях города: карбаматы, пиретроиды, неоникотиноиды / Н. В. Курдиль, О. В. Иващенко, В. Ф. Струк, А. Г. Богомол // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Т. 66, № 3. – С. 51–57.

76. Куценко, С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко. – Санкт-Петербург : Медицина, 2004. – 526 с.

77. Лабори, А. Регуляция обменных процессов (теоретический, экспериментальный, фармакологический и терапевтический аспекты) / А. Лабори. – Москва : Медицина, 1970. – 384 с.

78. Лапина, Н. В. Экспериментальное моделирование последствий тяжелых острых отравлений веществами депримирующего действия / Н. В. Лапина, В. А. Кашуро, Е. Г. Батоцыренова [и др.] // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний : материалы IV Всероссийской науч.-прак. конф., 18–20 окт. 2016 г. – Сочи, 2016. – С. 295–297.

79. Лахман, О. Л. Проблемы профессиональной нейроинтоксикации в современных условиях / О. Л. Лахман, В. Г. Колесов, О. К. Андреева [и др.] // Бюл. науч. совета «Медико-экологические проблемы работающих». – 2003. – С. 38–39.

80. Ливанов, Г. А. Особенности клинической картины острых отравлений производными барбитуровой кислоты и их терапии у пациентов пожилого и старческого возраста / Г. А. Ливанов, А. Н. Лодягин, А. Л. Коваленко [и др.] // Успехи геронтологии. – 2018. – Т. 31, № 2. – С. 239–245.

81. Ливанов, Г. А. Пути коррекции гипоксии и ее последствий у больных при тяжелых формах острых отравлений / Г. А. Ливанов, Б. В. Батоцыренов, С. И. Глушков [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2008. – № 3(61). – С. 90–92.

82. Ливанов, Г. А. Фармакологическая коррекция токсикогипоксической энцефалопатии у больных с тяжелыми формами острых отравлений ядами нейротропного действия / Г. А. Ливанов, Х. В. Батоцыренова, А. Н. Лодягин, Б. В. Батоцыренов // Токсикологический вестник. – 2007. – № 2. – С. 24–29.

83. Лисицкий, Д. С. Основные методы оценки нейротоксических последствий тяжелой формы острого отравления этанолом / Д. С. Лисицкий, К. О. Войцехович, А. С. Мелехова // Российский биомедицинский журнал Medline.ru. – 2015. – Т. 16. – С. 138–149.

84. Лисицкий, Д. С. Фармакологическая коррекция нарушений когнитивных функций у крыс после тяжелой формы острого отравления этанолом на фоне предварительной алкоголизации / Д. С. Лисицкий, А. С. Мелехова // Сборник трудов : материалы IV Съезда токсикологов России с международным участием, 6–8 ноября 2013 г. – Санкт-Петербург, 2013. – С. 289–291.

85. Лисицкий, Д. С. Фармакологическая коррекция последствий нейротоксических поражений при тяжелых формах острых отравлений этанолом : спец. 14.03.04 «Токсикология», 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология» : дис. ... канд. биол. наук / Лисицкий Дмитрий Сергеевич. – Санкт-Петербург, 2013. – 153 с.

86. Лоладзе, А. Т. Острые отравления диацетилморфином (героином) (обзор) / А. Т. Лоладзе, Г. А. Ливанов, Б. В. Батоцыренов [и др.]. // Общая реаниматология. – 2016. – Т. 12, № 6. – С. 64–81.

87. Лужников, Е. А. Детоксикационная терапия / Е. А. Лужников, Ю. С. Гольдфарб, С. Г. Мусселиус. – Санкт-Петербург : Лань, 2000. – 192 с.

88. Лужников, Е. А. Клиническая токсикология / Е. А. Лужников. – Москва : Медицина, 1982. – 368 с.
89. Лужников, Е. А. Критические расстройства гомеостаза при острых отравлениях / Е. А. Лужников, В. Н. Дагаев // Сб. науч. тр. Моск. НИИ скорой помощи. – 1988. – Т.74. – С. 5–14.
90. Лужников, Е. А. Особенности формирования и течения токсикогипоксической энцефалопатии при острых отравлениях веществами нейротоксического действия / Е. А. Лужников, Н. Ф. Леженина, Ю. С. Гольдфарб, Н. М. Епифанова // Анестезиология и реаниматология. – 2005. – № 6. – С. 4–8.
91. Лужников, Е. А. Острые отравления / Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова. – Москва : Медицина, 1989. – 432 с.
92. Лужников, Е. А. Острые отравления у взрослых и детей / Е. А. Лужников, Г. Н. Суходолова. – Москва : Эксмо, 2009. – 560 с.
93. Лузиков, В. Н. Регуляция формирования митохондрий. Молекулярные аспекты / В. Н. Лузиков. – Москва : Наука, 1980. – 318 с.
94. Лукьянова, Л. Д. Биохимические основы формирования механизмов адаптации к гипоксии / Л. Д. Лукьянова. Эколого-физиологические проблемы адаптации. – Москва, 1994. – С. 161–164.
95. Лукьянова, Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции / Л. Д. Лукьянова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244–254.
96. Ляхович, В. В. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков, Е. Б. Меньщикова // Биохимия. – 2006. – Т. 71, № 9. – С. 1183–1198.
97. Мамылина, Н. В. Анализ поведенческой активности у экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевой стресс [Электронный ресурс] / Н. В. Мамылина // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 5. Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4922>.



98. Мамылина, Н. В. Физиологические аспекты поведенческой активности животных в условиях эмоционального стресса: монография / Н. В. Мамылина, В. И. Павлова. – Челябинск : ЗАО «Цицеро», 2013. – 298 с.

99. Маркелова, Е. В. Нейропептиды как маркеры повреждения головного мозга [Электронный ресурс] / Е. В. Маркелова, А. А. Зенина, Р. В. Кадыров // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5. Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28099>.

100. Маркель, А. Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля / А. Л. Маркель // Журнал высшей нервной деятельности. – 1981. – Т. 31, № 2. – С. 301–307.

101. Маркова, И. В. Клиническая токсикология детей и подростков / И. В. Маркова, В. В. Афанасьев, Э. К. Цибулькин. – Санкт-Петербург : Интермедика, 1998. – Т. 1. – 302 с.

102. Маркова, И. В. Клиническая токсикология детей и подростков / И. В. Маркова, В. В. Афанасьев, Э. К. Цибулькин. – Санкт-Петербург : Интермедика, 1999. – Т. 2. – 399 с.

103. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб. и доп. – Москва : «Новая Волна», 2012. – 1216 с.

104. Машковский, М. Д. Лекарственные средства В 2 т. Т. 1 / М. Д. Машковский. – 13-е изд., перераб. и доп. – Харьков: Торсинг, 1997. – 560 с.

105. Машковский, М. Д. Фармакология антидепрессантов / М. Д. Машковский, Н. И. Андреева, А. И. Полежаева. – Москва : Медицина, 1983. – 121 с.

106. Медицинская токсикология: национальное руководство / под ред. Е. А. Лужникова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.

107. Мелехова, А. С. Фармакологическая коррекция нейротоксических нарушений при тяжелом отравлении фенилкарбаматом / А. С. Мелехова, Д. С. Лисицкий, К. О. Войцехович [и др.] // Медико-биологические аспекты химической безопасности : материалы III всероссийской научной конф. молодых ученых, 05–07 сент. 2018 г. – Санкт-Петербург, 2018. – С. 123–124.

108. Мельников, Н. Н. Справочник по пестицидам / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, С. Р. Белан, Т. Н. Пылова. – Москва, 1985. – 352 с.

109. Мендель, В. Э. Мелатонин: роль в организме и терапевтические возможности. Опыт применения препарата мелаксен в российской медицинской практике / В. Э. Мендель, О. И. Мендель // Русский медицинский журнал. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 336–341.

110. Меньшиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая; под ред. В. В. Меньшикова. – Москва : Медицина, 1987. – С. 189–190.

111. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин. – Москва : Фирма «Слово», 2006. – 556 с.

112. Минкевич, Н. И. PEDF – неингибиторный серпин с нейропротекторной и антиангиогенной активностями / Н. И. Минкевич, В. М. Липкин, И. А. Костанян // Acta naturae. – 2010. – Т. 2, № 3(6). – С. 74–78.

113. Мисюк, Н. С. Неотложная помощь в невропатологии / Н. С. Мисюк, А. М. Гурленя, М. С. Дронин. – 2-е изд. – Минск : Вышэйшая школа, 1979. – 302 с.

114. Могош, Г. Острые отравления / Г. Могош. – Бухарест, 1984. – 579 с.

115. Молчанова, Л. В. Влияние окклюзионной ишемии мозга на функциональное состояние внутренних органов / Л. В. Молчанова, Г. Н. Чернобаева, Л. Н. Щербакова // Анестезиология и реаниматология. – 2001. – № 6. – С. 54–56.

116. Моррисон, В. В. Кислотно-основное состояние. Регуляция кислотно-основного гомеостаза (лекция 1) / В. В. Моррисон, Н. П. Чеснокова, М. Н. Бизенкова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 3(2). – С. 270–273.

117. Мусийчук, Ю. И. О состоянии исследований отдаленных последствий действия химических веществ на людей / Ю. И. Мусийчук, Л. В. Янно // Гигиена труда и профзаболевания. – 1988. – № 9. – С. 4–8.

118. Мышкин, В. А. Коррекция нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия после тяжелых острых отравлений (экспериментальное исследование) / В. А. Мышкин, А. И. Савлуков, И. Л. Гуляева [и др.] // *Общая реаниматология*. – 2007. – Т. 3, № 5(6). – С. 69–74.

119. Надев, А. Д. Токсические и сигнальные свойства активных форм кислорода / А. Д. Надеев, В. П. Зинченко, П. В. Авдонин, Н. В. Гончаров // *Токсикологический вестник*. – 2014 – № 2 – С. 22–27.

120. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т. 2 / *Биоэнергетика и метаболизм* / Д. Нельсон, М. Кокс. – 3-е изд., перевод с англ. – Москва : Лаборатория знаний, 2017. – 691 с.

121. Ненастьева, А. М. Применение а-липоевой кислоты в лечении алкогольной полинейропатии / А. М. Ненастьева, Н. Н. Усманова, Н. В. Пинская // *Наркология*. – 2015. – Т. 14, № 12(168). – С. 18–22.

122. Неотложная клиническая токсикология : руководство для врачей / под ред. Е. А. Лужникова. – Москва : Медпрактика-М, 2007. – 608 с.

123. Новиков, В. Е. Влияние производных ГАМК на развитие токсического отека головного мозга / В. Е. Новиков, В. С. Яснецов // *Фармакология и токсикология*. – 1982. – № 6. – С. 75–77.

124. Новиков, В. Е. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, Е. В. Пожилова // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2014. – Т. 12, № 4. – С. 13–21.

125. Новиков, В. Е. Фармакология и биохимия гипоксии / В. Е. Новиков, Н. П. Катунина // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 73-87.

126. Новиков, В. С. Физиология экстремальных состояний / В. С. Новиков, В. В. Горанчук, Е. Б. Шустов. – Санкт-Петербург : Наука, 1998. – 247 с.

127. Носов, А. В. Коррекция нарушений энергетического обмена при острых отравлениях депримирующими ядами / А. В. Носов, В. А. Башарин, Е. Ю.

Бонитенко, Н. А. Белякова // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2014. – Т. 15. – С. 195–208.

128. Одинак, М. М. Применение сукцинатов для коррекции метаболических нарушений в зоне ишемической полутени у пациентов с инсультом / М. М. Одинак, С. Н. Янишевский, Н. В. Цыган [и др.] // Неврологический вестник. Журнал им. В.М. Бехтерева. – 2014. – Т. 46, № 4. – С. 26–31.

129. Оковитый, С. В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С. В. Оковитый // ФАРМиндекс-Практик. – 2003. – № 5. – С. 85–111.

130. Оковитый, С. В. Протеинсинтетические и иммунные механизмы защиты репаративных эффектов гепатотропных средств : спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» : дис. ...канд. мед. наук / Оковитый Сергей Владимирович. – Санкт-Петербург, 1995. – 195 с.

131. Основы психопатологии : учеб.-метод. комплекс по учеб. дисциплине для специальностей пед. фак. и фак. соц. педагогики и психологии / сост.: И. И. Ефременко, Г. И. Наумова. – Витебск : ВГУ имени П. М. Машерова, 2018. – 342 с.

132. Остапенко, Ю. Н. Современная токсикологическая ситуация и организация медицинской помощи при острых отравлениях в г. Москве / Ю. Н. Остапенко, Н. Н. Литвинов, Р. С. Хонелидзе [и др.] // Токсикологический вестник. – 2002. – № 6. – С. 2–8.

133. Остапенко, Ю. Н. Токсикологическая помощь населению Российской Федерации: состояние и проблемы / Ю. Н. Остапенко, А. В. Ковалев, З. М. Гасимова [и др.] // Токсикологический вестник. – 2014. – № 3. – С. 2–8.

134. Парк, Д. В. Биохимия чужеродных соединений: пер. с англ. / Д. В. Парк. – Москва : Медицина, 1973. – 287 с.

135. Патент 2188196 Российская Федерация, МПК C07D 239/62 (2000.01), C07D 239/66 (2000.01), A61K 31/515 (2000.01), A61P 31/12 (2000.01). Приемопередающее устройство [N-замещенные производные 5-оксииминобарбитуровой кислоты] / Ашкинази Р. И. ; заявитель и

патентообладатель Ашкинази Римма Ильинична № 2000127071/04 : заявл. 26.05.98 : опубл. 27.08.02. – 45 с. : табл.

136. Пермяков, А. А. ЭЭГ-корреляты поведения крыс при хроническом стрессе [Электронный ресурс] / А. А. Пермяков, Е. В. Елисеева, А. Д. Юдицкий, Л. С. Исакова // Электронный научно-практический журнал «Современные научные исследования и инновации». – 2013. – № 10. Режим доступа: <http://web.snauka.ru/issues/2013/10/27909>.

137. Поварова, О. В. Нейропротекторное действие витамина К / О. В. Поварова, О. С. Медведев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 10. – С. 40–44.

138. Полетаев, А. Б. Мозгоспецифические белки группы S-100, их эндогенные акцепторы и лиганды, и регуляция метаболических процессов в нервной ткани : спец. 03.00.04 «Биохимия» : дисс. ... д-ра. мед. наук / Полетаев Александр Борисович. – Москва, 1987. – 228 с.

139. Пошивалов, В. П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах / В. П. Пошивалов. – Москва. 1978. – 43 с.

140. Преображенская, И. С. Проницаемость гематоэнцефалического барьера при болезни Альцгеймера и паркинсонизме с когнитивными нарушениями / И. С. Преображенская, В. П. Чехонин, Н. Н. Яхно // Журнал неврологии и психиатрии. – 2001. – Т. 101, № 5. – С. 39–42.

141. Проскурякова, М. В. Влияние лектина бацилл на активность креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в сыворотке крови самцов крыс при различных стрессовых факторах / М. В. Проскурякова, Л. В. Карпунина, М. Д. Сметанина, М. Л. Малинин // Аграрный научный журнал. – 2015. – № 10. – С. 14–16.

142. Саватеев, Н. В. Военная токсикология, радиология и медицинская защита / Под ред. Н. В. Саватеева. – Изд. 2-е, переработ. и доп. – Ленинград : Военно-медицинской ордена Ленина академии им. С. М. Кирова, 1984. – 355 с.

143. Саркизова, К. Ю. Депрессивноподобные изменения в поведении и экспрессии гена *c-fos* в дофаминергических структурах мозга у крыс линии WAG/RIJ / К. Ю. Саркизова, М. А. Куликов, И. С. Мидзяновская // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52, № 6. – С. 733–742.
144. Сидорин, Г. И. Современные проблемы профилактической токсикологии. / Г. И. Сидорин. – Москва : Наука, 1991. – С. 4–23.
145. Симонов, П. В. Мотивированный мозг / П. В. Симонов. – Москва : Наука, 1987. – 105 с.
146. Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии / под ред. И. С. Чекмана. – Киев : Здоров'я, 1987. – 119 с.
147. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология) / под ред. Л. И. Медведя. – Киев : Урожай, 1974. – 448 с.
148. Стальная, И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии : книга / под ред. В. Н. Ореховича. – Москва : Медицина, 1977. – С. 63–64.
149. Старчина, Ю. А. Недементные когнитивные нарушения: современный взгляд на проблему / Ю. А. Старчина // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2017. – Т. 9, № 2. – С. 71–76.
150. Сумин, С. А. Неотложные состояния / С. А. Сумин. – Москва : «Фармацевтический мир», 2000. – 459 с.
151. Сыровая, А. О. Биологическая роль свободных радикалов в развитии патологических состояний / А. О. Сыровая, Ф. С. Леонтьева, И. В. Новикова, С. В. Иванникова // Международный медицинский журнал. – 2012. – Т. 18, № 3. – С. 98–104.
152. Сычёва, М. А. Органические поражения головного мозга : учеб. пособие / М. А. Сычёва, И. Г. Сергеева, А. А. Тулупов. – Новосибирск : РИЦ НГУ, 2015. – 32 с.

153. Титович, И. А. Изучение влияния производного аминокэтанола на когнитивные функции лабораторных животных / И. А. Титович, С. В. Радько, Д. С. Лисицкий // Биомедицина. – 2017. – № 3. – С. 102–110.

154. Тиунов, Л. А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты / Л. А. Тиунов // Вестник РАМН. – 1995. – № 3. – С. 9–13.

155. Трошин, В. В. Последствия хронических профессиональных нейротоксикозов и вопросы нейрореабилитации / В. В. Трошин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 1. – С. 201–204.

156. Фармакология : учебник / под ред. Р. Н. Аляутдина. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 1104 с.

157. Фархутдинова, Л. М. Окислительный стресс. История вопроса / Л. М. Фархутдинова // Вестник Академии наук Республики Башкортостан. – 2015. – Т. 20, № 1(77). – С. 42–49.

158. Фисун, А. М. Случай успешного лечения больной с тяжелым отравлением фенobarбиталом / А. М. Фисун, Т. Н. Куликова // Анестезиология и реаниматология. – 2005. – № 4. – С. 72–73.

159. Халилов, Р. А. Кинетические свойства лактатдегидрогеназы печени крыс в норме и при умеренной гипотермиию [Электронный ресурс]/ Р. А. Халилов, А. М. Джафарова, С. И. Хизриева, В. Р. Абдуллаев // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27087>.

160. Хронобиология и хрономедицина / под ред. Ф. И. Комарова. – Москва : Медицина, 1989. – 401 с.

161. Чекман, И. С. Острые отравления лекарственными препаратами: диагностика, меры неотложной терапии / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова [и др.]. – Киев : Запорожье, 2018. – 100 с.

162. Чехонин, В. П. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний / В. П. Чехонин,

О. И. Гурина, Т. Б. Дмитриева // Биомедицинская химия. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 549–563.

163. Шабанов, П. Д. Доказательность нейропротекторных эффектов полипептидных препаратов: нерешенные вопросы / П. Д. Шабанов // Нервные болезни. – 2011. – № 1(4). – С. 17–20.

164. Шамрей, В. К. Военная психиатрия в схемах, таблицах и рисунках / В. К. Шамрей, А. В. Рустанович. – Санкт-Петербург : «ЭЛБИ-СПб», 2000. – 223 с.

165. Швецов, А. В. Влияние экспериментальной комы на экспрессию белка bcl-2 и каспаз-3,9 в мозге крыс / А. В. Швецов, Н. А. Дюжикова, Ю. Н. Савенко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 8. – С. 178–181.

166. Швецов, А. В. Исследование маркеров структурно-функциональных нарушений центральной нервной системы крыс на экспериментальной модели тиопенталовой комы / А. В. Швецов, Е. Г. Батоцыренова, С. В. Степанов, М. Б. Иванов // Нейрохимия. – 2016. – Т. 33, № 4. – С. 332–336.

167. Шевченко, Ю. Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника / под. ред. Ю. Л. Шевченко. – Санкт-Петербург : ООО «ЭЛБИ-СПб», 2000. – 384 с.

168. Шилов, В. В. Коррекция мнестико-интеллектуальных нарушений в соматогенной стадии острых отравлений смесью психотропных препаратов / В. В. Шилов, М. В. Александров, С. А. Васильев [и др.] // Фармакотерапия. – 2012. – № 3. – С. 63–65.

169. Шилов, В. В. Острая церебральная недостаточность при тяжелых отравлениях / В. В. Шилов, М. В. Александров, С. А. Васильев [и др.] // Российский биомедицинский журнал Medline.ru. – 2010. – Т. 11. – С. 315–321.

170. Шугалей, И. В. Ингибирующее действие производных виолуровой кислоты в реакции окисления оксигемоглобина нитрит-ионом / И. В. Шугалей, И. В. Целинский, К. А. Краснов, Н. А. Седельникова // Журнал Общей Химии. – 1993. – Т. 63, № 7. – С. 1646–1650.

171. Adams, J. D. Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: regulation and response to oxidative stress / J. D. Adams, B. H. Lauterburg, J. R.



Mitchell // *Journal of pharmacological experimental therapy*. – 1983. – Vol. 227, № 3. – P. 749–754.

172. Allwood, M. C. *The cytotoxics handbook* / M. C. Allwood, P. Wright. – Oxford : Red-cliffe med. Press, 1990. – 239 p.

173. Almeida, R. D. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways / R. D. Almeida, B. J. Manadas, C. V. Melo [et al.] // *Cell Death & Differentiation*. – 2005. – Vol. 12, № 10. – P. 1329–1343.

174. Altman, D. G. How to randomise / D. G. Altman, J. M. Bland // *British medical journal*. – 1999. – Vol. 319, № 7211. – P. 703–704.

175. Asakawa, T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushita // *Lipids*. – 1980. – Vol. 15, № 3. – P. 137–140.

176. Bakay, R. A. Pathophysiology of cerebrospinal fluid in head injury: Part 2. Biochemical markers for central nervous system trauma / R. A. Bakay, K. M. Sweeney, J. H. Wood // *Neurosurgery*. – 1986. – Vol. 18, № 3. – P. 376–382.

177. Barger, S. W. S100 beta stimulates calcium fluxes in glial and neuronal cells / S. W. Barger, L. J. Van Eldik // *Journal of Biological Chemistry*. – 1992. – Vol. 267, № 14. – P. 9689–9694.

178. Barger, S. W. S100 $\beta$  protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation / S. W. Barger, L. J. Van Eldik, M. P. Mattson // *Brain Research*. – 1995. – Vol. 677, № 1. – P. 167–170.

179. Berger, R. P. Identification of inflicted traumatic brain injury in well-appearing infants using serum and cerebrospinal markers: a possible screening tool / R. P. Berger, T. Dulani, P. D. Adelson [et al.] // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 117, № 2. – P. 325–332.

180. Berger, R. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children / R. Berger, P. Adelson, M. C. Pierce [et al.] // *J Neurosurg*. – 2005. – Vol. 103. – P. 61–68.

181. Bilak, M. M. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) protects motor neurons from chronic glutamate-mediated neurodegeneration / M. M. Bilak, A. M. Corse, S. R. Bilak // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. – 1999. – Vol. 58, № 7. – P. 719–728.

182. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework / Biomarkers Definitions Working Group // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. – 2001. – Vol. 69, № 3. – P. 89–95.

183. Bottiger, B. W. Efficacy and safety of thrombolytic therapy after initially unsuccessful cardiopulmonary resuscitation: a prospective clinical trial / B. W. Bottiger, C. Bode, S. Kern // *The Lancet*. – 2001. – Vol. 357, № 9268. – C. 1583–1585.

184. Bracci, M. L-arginine reduces mercury accumulation in thymus of mercury-exposed mice: role of nitric oxide synthase activity and metallothioneins / M. Bracci, M. Tomasetti, M. Malavolta [et al.] // *Industrial Health*. – 2008. – Vol. 46, № 6. – P. 567–574.

185. Brüne, B. Redox control of inflammation in macrophages / B. Brüne, N. Dehne, N. Grossmann [et al.] // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2013. – Vol. 19, № 6. – P. 595–637.

186. Cao, W. Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death / W. Cao, J. Tombran-Tink, W. Chen [et al.] // *Journal of Neuroscience Research*. – 1999. – Vol. 57, № 6. – P. 789–800.

187. Castilho, R. F. Oxidative damage of mitochondria induced by Fe(II)citrate or t-butyl hydroperoxide in the presence of Ca<sup>2+</sup>: effect of coenzyme Q redox state / R. F. Castilho, A. J. Kowaltowski, A. R. Meinickei // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1995. – Vol. 18, № 1. – P. 55–59.

188. Chapalamadugu, S. Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates / S. Chapalamadugu, G. R. Chaudhry // *Critical Reviews in Biotechnology*. – 1992. – Vol. 12, № 5(6). – P. 357–389.

189. Chekhonin, V. P. Selective accumulation of monoclonal antibodies against neurospecific enolase in brain tissue of rats with middle cerebral artery occlusion / V. P.

Chekhonin, S. V. Lebedev, I. A. Ryabukhin [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2004. – Vol. 138, № 4. – C. 343–347.

190. Chen, C. J. Gliotoxic action of glutamate on cultured astrocytes / C. J. Chen, S. L. Liao, J. S. Kuo // *Journal of Neurochemistry*. – 2000. – Vol. 75, № 4. – P. 1557–1565.

191. Chen, H. Y. Treatment of drug-induced seizures / H. Y. Chen, T. E. Albertson, K. R. Olson // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2016. – Vol. 81, № 3. – P. 412–419.

192. Chen, Y. Organophosphate-induced brain damage: mechanisms, neuropsychiatric and neurological consequences, and potential therapeutic strategies / Y. Chen // *Neurotoxicology*. – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 391–400.

193. Copin, J. C. Free radical scavenging systems of rat astroglial cells in primary culture: effects of anoxia and drug treatment / J. C. Copin, M. Ledig, G. Tholey // *Neurochemical Research*. – 1992. – Vol. 17, № 7. – P. 677–682.

194. Cunha-Oliveira, T. Cellular and molecular mechanisms involved in the neurotoxicity of opioid and psychostimulant drugs / T. Cunha-Oliveira, A. C. Rego, C. R. Oliveira // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 58, № 1. – P. 192–208.

195. DeCoster, M. A. Neuroprotections by pigment epithelial-derived factor against glutamate toxicity in developing primary hippocampal neurons / M. A. DeCoster, E. Schabelman, J. Tombran-Tink, N. G. Bazan // *Journal of Neuroscience Research*. – 1999. – Vol. 56, № 6. – P. 604–610.

196. Donato, R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles / R. Donato // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2001. – Vol. 33, № 7. – P. 637–668.

197. Donnan, G. A. CSF enzymes in lacunar and cortical stroke / G. A. Donnan, P. Zapf, A. E. Doyle, P. F. Bladin // *Stroke*. – 1983. – Vol. 14, № 2. – P. 266–269.

198. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.

199. Eng, L. F. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes / L. F. Eng, J. J. Vanderhaeghen, A. Bignami, B. Gerstl // *Brain Research*. – 1971. – Vol. 28, № 2. – P. 351–354.
200. Fanò, G. The S-100: a protein family in search of a function / G. Fanò, S. Biocca, S. Fulle [et al.] // *Prog Neurobiol*. – 1995. – Vol. 46, № 1. – P. 71–82.
201. Flynn, C. J. Concomitant increases in the levels of choline and free fatty acids in rat brain: evidence supporting the seizure-induced hydrolysis of phosphatidylcholine / C. J. Flynn, L. Wecker // *Journal of Neurochemistry*. – 1987. – Vol. 48, № 4. – P. 1178–1184.
202. Fromenty, B. Microvesicular steatosis and steatohepatitis: Role of Mitochondrial Dysfunction and Lipid Peroxidation / B. Fromenty, A. Berson, D. Pessayre // *The Journal of Hepatology*. – 1997. – Vol. 26, № 1. – P. 13–23.
203. Giampreti, A. Recurrent tonic-clonic seizures and coma due to ingestion of Type I pyrethroids in a 19-month-old patient. / A. Giampreti, L. Lampati, G. Chidini, [et al.] // *Clinical Toxicology*. – 2013. – Vol. 51, № 6. – P. 497–500.
204. Gladwin, M. T. Pathogenesis and treatment of acute chest syndrome of sickle-cell anaemia / M. T. Gladwin, G. P. Rodgers // *The Lancet*. – 2000. – Vol. 355, № 9214. – P. 1476–1478.
205. Guillen, S. R. Historical aspects and applications of barbituric acid derivatives: a review / S. R. Guillen, C. M. Guzman // *Pharmazie*. – 1988. – Vol. 43, № 12. – P. 827–829.
206. Gupta, R. C. *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agent* / R. C. Gupta. – Academic Press, 2009. – 1147 p.
207. Habig, W. H. Assay for differentiation of glutathione S-transferases / W. H. Habig, W. B. Jakoby // *Methods in Enzymology*. – 1981. – Vol. 77. – P. 398–405.
208. Ho, T. C. Pigment epithelium-derived factor protects retinal pigment epithelium from oxidant-mediated barrier dysfunction / T. C. Ho, Y. C. Yang, H. C. Cheng // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2006. – Vol. 342, № 2. – P. 372–378.

209. Hu, J. Glial derived proteins activate cultured astrocytes and enhance  $\beta$ -amyloid-induced astrocyte activation / J. Hu, L. J. Van Eldik // *Brain Research*. – 1999. – Vol. 842, № 1. – P. 46–54.

210. Ingebrigtsen, T. Biochemical serum markers of traumatic brain injury. / T. Ingebrigtsen, B. Romner // *The Journal of Trauma*. – 2002. – Vol. 52, № 4. – P. 798–808.

211. Jaeschke, H. Mitochondria and xanthine oxidase both generate reactive oxygen species in isolated perfused rat liver after hypoxic injury / H. Jaeschke, J. R. Mitchell // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1989. – Vol. 160, № 1. – P. 140–147.

212. Jann, M. W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors / M. W. Jann, K. L. Shirley, G. W. Small // *Clinical Pharmacokinetics*. – 2002. – Vol. 41, № 10. – P. 719–739.

213. Juurlink, B. H. Response of glial cells to ischemia: roles of reactive oxygen species and glutathione / B. H. Juurlink // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 1997. – Vol. 21, № 2. – P. 151–166.

214. Kagiya, T. Neuroprotective Action of Halogenated Derivatives of LPhenylalanine / T. Kagiya, A. V. Glushakov, C. Summers [et al.] // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35, № 5. – P. 1192–1196.

215. Kappus, H. Toxic drug effect associated with oxygen metabolism redox cycling and lipid peroxidation / H. Kappus, H. Sies // *Experientia*. – 1981. – Vol. 37, № 12. – P. 1233–1241.

216. Kärkelä, J. CSF and serum brain-specific creatine kinase isoenzyme (CK-BB), neuron-specific enolase (NSE) and neural cell adhesion molecule (NCAM) as prognostic markers for hypoxic brain injury after cardiac arrest in man / J. Kärkelä, E. Bock, S. Kaukinen // *Journal of the neurological sciences*. – 1993. – Vol. 116, № 1. – P. 100–109.

217. Kaur, S. Potential pharmacological strategies for the improved treatment of organophosphate-induced neurotoxicity / S. Kaur, S. Singh, K. S. Chahal, A. Prakash //

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 2014. – Vol. 92, № 11. – P. 893–911.

218. King, A. M. Organophosphate and carbamate poisoning / A. M. King, C. K. Aaron // *Emergency Medicine Clinics of North America*. – 2015. – Vol. 33, № 1. – P. 133–151.

219. Kochanek, P. Biomarkers of primary and evolving damage in traumatic and ischemic brain injury: diagnosis, prognosis, probing mechanisms, and therapeutic decision making / P. Kochanek, R. P. Berger, H. Bayir [et al.] // *Curr Opin Crit Care*. – 2008. – Vol. 14, № 2. – P.135–141.

220. Lance, J. Coenzyme Q10 – a therapeutic agent / J. Lance, S. McCabe, R. L. Clancy, J. Pierce // *Official Journal of the Academy of Medical-Surgical Nurses*. – 2012. – Vol. 21, № 6. – P. 367–371.

221. Li, J. Biomarkers associated with diffuse traumatic axonal injury: Exploring pathogenesis, early diagnosis, and prognosis / J. Li, X. Li, D. Feng [et al.] // *The Journal of Trauma*. – 2010. – Vol. 69, № 6. – P. 1610–1618.

222. Lindblom, U. Isoenzymes of lactic acid dehydrogenase in brain damage / U. Lindblom, T. Vrethammar, B. Aberg // *Nordisk medicin*. – 1967. – Vol. 77, № 11. – P. 337–340.

223. Marti, H. H. Erythropoietin and the hypoxic brain / H. H. Marti // *Journal of experimental biology*. – 2004. – Vol. 207, №. 18. – P. 3233–3242.

224. Mc Wang, I. J. The role of superoxide and nuclear factor-kappaB signaling in Nmethyl-D-aspartate-induced necrosis and apoptosis / I. J. Mc Wang, C. Anastasio, N. Hultman [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2002. – Vol. 301, № 2. – P. 478–487.

225. Meister, A. Glutathione / A. Meister, M. E. Anderson // *Annual Review of Biochemistry*. – 1983. – Vol. 52. – P. 711–760.

226. Milatovic, D. Anticholinesterase toxicity and oxidative stress / D. Milatovic, R. C. Gupta, M. Aschner // *Scientific World Journal*. – 2006. – Vol. 6. – P. 295–310.

227. Mondello S., Neuronal and glial markers are differently associated with computed tomography findings and outcome in patients with severe traumatic brain injury: a case control study / S. Mondello, L. Papa, A. Buki [et al.] // *Critical Care*. – 2011. – Vol. 15, № 3. – P. R156.

228. Moore, B. W. A soluble protein characteristic of the nervous system / B. W. Moore // *Biochem Biophys Res Commun*. – 1965. – Vol. 19, № 6. – P. 739–744.

229. Moore, B. W. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver / B. W. Moore, D. Mcgregor // *Journal of Biological Chemistry*. – 1965. – Vol. 240, № 4. – P. 1647–1653.

230. Moser, V. C. Observational batteries in neurotoxicity testing / V. C. Moser // *International Journal of Toxicology*. – 2000. – № 19, № 6. – P. 407–411.

231. Niknahad, H. Hepatocyte injury resulting from the inhibition of mitochondrial respiration at low oxygen concentrations involves reductive stress and oxygen activation / H. Niknahad, S. Khan, P. J. O'Brien // *Chemico-Biological Interactions*. – 1995. – Vol. 98, № 1. – P. 27–44.

232. Nishikawa, M. Heat shock protein derivatives for delivery of antigens to antigen presenting cells / M. Nishikawa, S. Takemoto, Y. Takakura // *International journal of pharmaceutics*. – 2008. – Vol. 354, № 1-2. – P. 23–27.

233. Ost, M. Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury / M. Ost, K. Nylén, L. Csajbok [et al.] // *Neurology*. – 2006. – Vol. 67, № 9. – P. 1600–1604.

234. Parakh, N. Evaluation of enzymes in serum and cerebrospinal fluid in cases of stroke / N. Parakh, H. L. Gupta, A. Jain // *Neurology India*. – 2002. – Vol. 50, № 4. – P. 518.

235. Pelinka, L. E. Glial fibrillary acidic protein in serum after traumatic brain injury and multiple trauma / L. E. Pelinka, A. Kroepfl, H. Schmidhammer [et al.] // *The Journal of Trauma*. – 2004. – Vol. 57, № 5. – P. 1006–1012.

236. Pohl, L. The formation of diglutathionyl-dithiocarbonate as metabolite of chloroform, bromtrichloromethane and carbon tetrachloride / L. Pohl, R. V. Branchflow, R. J. Highet // *Drug Metabolism*. – 1981. – Vol. 9, № 4. – P. 334–339

237. Reilly, P. M. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites / P. M. Reilly, H. J. Schiller, G. B. Bulkley // *The American Journal of Surgery*. – 1991. – Vol. 161, № 4. – P. 488–503.

238. Reiter, R. J. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs / R. J. Reiter, D. X. Tan, R. M. Sainz [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2002. – Vol. 54, № 10. – P. 1299–1321.

239. Robinson, N. Some properties of human cerebral lactate dehydrogenase / N. Robinson // *Clinica Chimica Acta*. – 1965. – Vol. 11, № 4. – P. 293–297.

240. Ross, W. T. Hepatic necrosis caused by halothane and hypoxia in phenobarbital-treated rats / W. T. Ross, B. P. Daggy, R. R. Cardell // *Anesthesiology*. – 1979. – Vol. 51, № 4. – P. 327–333.

241. Saatman, K. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies / K. Saatman, A. C. Duhaime, R. Bullock [et al.] // *Journal of neurotrauma*. – 2008. – Vol. 25, № 7. – P. 719–738.

242. Sahu, S. Biochemical changes in the injured brain / S. Sahu, D. S. Nag, A. Swain, D. P. Samaddar // *World journal of biological chemistry*. – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 21–31.

243. Sasaki, T. Effect of in vitro ischemic or hypoxic treatment on mitochondrial electron transfer activity in rat brain slices assessed by gas-tissue autoradiography using / T. Sasaki, M. Senda, T. Ohno // *Brain Research*. – 2001. – Vol. 26, № 1. – P. 100–109.

244. Schanne, F. Calcium dependence of toxic cell death – final common pathway / F. Schanne, A. B. Kane, E. E. Young // *Science*. – 1979. – Vol. 206, № 4419. – P. 700–702.

245. Schardein, J. L. Potential human developmental toxicants and the role of animal testing in their identification and characterization / J. L. Schardein, K. A. Keller // *Critical Reviews in Toxicology*. – 1989. – Vol. 19, № 3. – P. 251–339.

246. Schurr, A. Energy metabolism, stress hormones and neural recovery from cerebral ischemia/hypoxia / A. Schurr // *Neurochemistry international*. – 2002. – Vol. 41, № 1. – P. 1–8.



247. Schurr, A. Lactate: the ultimate cerebral oxidative energy substrate? / A. Schurr // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2006. – Vol. 26, № 1. – P. 142–152.

248. Sedaghat, F. S100 protein family and its application in clinical practice / F. Sedaghat, A. Notopoulos // *Hippokratia*. – 2008. – Vol. 12, № 4. – P. 198–204.

249. Sessink, P. J. Influence of Aroclor 1254, phenobarbital, beta-naphthoflavone, and ethanol pretreatment on the biotransformation of cyclophosphamide in male and female rats / P. J. Sessink, W. H. Vaes, P. H. van den Broek [et al.] // *Toxicology*. – 1996. – Vol. 112, № 2. – P. 141–150.

250. Shibuta, S. Nitric oxide-induced cytotoxicity attenuation by thiopentone sodium but not pentobarbitone sodium in primary brain cultures / S. Shibuta, J. Kosaka, T. Mashimo [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 1998. – Vol. 124, № 4. – P. 804–810.

251. Siegers, C. P. Halothane hepatotoxicity in hyperthyroid rats as compared to the phenobarbital-hypoxia model / C. P. Siegers, A. Fruhling, M. Younes // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 1983. – Vol. 69, № 2. – P. 257–264.

252. Siesjo, B. K. Neuronal cell damage in the brain: possible involvement of oxidative mechanisms / B. K. Siesjo, S. Rehncrona, D. Smith // *Acta physiologica Scandinavica. Supplementum*. – 1980. – Vol. 492. – P. 121–128.

253. Singh, D. Effect of phenobarbital on free radicals in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy: a randomized controlled trial / D. Singh, P. Kumar, S. Majumdar, A. Narang // *Journal of Perinatal Medicine*. – 2004. – Vol. 32, № 3. – P. 278–281.

254. Skoulis, N. P. Perturbation of glutathione by a central action of morphine / N. P. Skoulis, R. C. James, R. D. Harbison // *Toxicology*. – 1989. – Vol. 57, № 3. – P. 287–302.

255. Sparenborg, S. Dizocilpine (MK-801) arrests status epilepticus and prevents brain damage induced by soman / S. Sparenborg, L. H. Brennecke, N. K. Jaax, D. J. Braitman // *Neuropharmacology*. – 1992. – Vol. 31, № 4. – P. 357–368.

256. Sparenborg, S. Dizocilpine (MK-801) arrests status epilepticus and prevents brain damage induced by soman / S. Sparenborg, L. H. Brennecke, N. K. Jaax, D. J. Braitman // *Neuropharmacology*. – 1992. – Vol. 31, № 4. – P. 357–368.

257. Stahl, W. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein / W. Stahl, A. Junghans, B. de Boer [et al.] // *FEBS Letters*. – 1998. – Vol. 427, № 2. – P. 305–308.

258. Sun, X. Neuroprotection of brain-derived neurotrophic factor against hypoxic injury in vitro requires activation of extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase / X. Sun, H. Zhou, X. Luo [et al.] // *International journal of developmental neuroscience*. – 2008. – Vol. 26, № 3(4). – P. 363–370.

259. Svetlov, S. Biomarkers of blast-induced neurotrauma: profiling molecular and cellular mechanisms of blast brain injury / S. Svetlov, S. Larner, D. Kirk [et al.] // *Journal of Neurotrauma*. – 2009. – Vol. 26, № 6. – P. 913–921.

260. Taniwaki, T. Pigment epithelium derived factor (PEDF) is a survival factor for cerebellar granule cells in culture / T. Taniwaki, S. P. Becerra, G. J. Chader, J. P. Schwartz // *Journal of Neurochemistry*. – 1995. – Vol. 64, № 6. – P. 2509–2517.

261. Tilson, H. A. Neurobehavioral techniques to assess the effects of chemicals on the nervous system / H. A. Tilson, C. L. Mitchell // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 1984. – № 24. – P. 425–450.

262. Tribble, D. L. Oxygen dependence of oxidative stress. Rate of NADPH supply for maintaining the GSH pool during hypoxia / D. L. Tribble, D. P. Jones // *Biochemical Pharmacology*. – 1990. – Vol. 39, № 4. – P. 729–736.

263. Turturici, G. Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases [Электронный ресурс] / G. Turturici, G. Sconzo, F. Geraci // *Biochemistry Research International*. – 2011. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/618127>.

264. Uchiyama, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Uchiyama, M. Michara // *Analytical Biochemistry*. – 1978. – Vol. 86, № 1. – P. 271–278.

265. Van Dyke, R. A. Hepatic centrilobular necrosis in rats after exposure to halo-thane, enflurane, or isoflurane / R. A. Van Dyke // *Anesthesia & Analgesia*. – 1982. – Vol. 61, № 10. – P. 812–819.
266. Vigh, L. Bimoclomol: a nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effect / L. Vigh, P. N. Literati, I. Horvath [et al.] // *Nature Medicine*. – 1997. – Vol. 3, № 10. – P. 1150–1154.
267. von Gall, C. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction / C. von Gall, J. Stehle, D. R. Weaver // *Cell Tissue Res*. – 2002. – Vol. 309, № 1. – P. 151–162.
268. Wang, P. Generally detected proteins in comparative proteomics-a matter of cellular stress response? / P. Wang, F. G. Bouwman, E. C. Mariman // *Proteomics*. – 2009. – Vol. 9, № 11. – P. 2955–2966.
269. Wang, X. Hemoglobin-Induced Cytotoxicity in Rat Cerebral Cortical Neurons: Caspase Activation and Oxidative Stress / X. Wang, T. Mori, T. Sumii, H. Eng // *Stroke*. – 2002. – Vol. 33, № 7. – P. 1882–1888.
270. Wang, X. Methazolamide and Melatonin Inhibit Mitochondrial Cytochrome C Release and Are Neuroprotective in Experimental Models of Ischemic Injury / X. Wang, B. E. Figueroa, I. G. Stavrovskaya [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, № 5. – P. 1877–1885.
271. Webley, G. E. Positive relationship between the nocturnal concentrations of melatonin and prolactin, and a stimulation of prolactin after melatonin administration in young men / G. E. Webley, A. Böhle, F. A. Leidenberger // *Journal of pineal research*. – 1988. – T. 5, № 1. – P. 19–33.
272. Weiss, S. J. Oxygen, ischemia and inflammation / S. J. Weiss // *Acta Physiologica Scandinavica*. – 1986. – Vol. 126, № 548. – P. 9–37.
273. Welch, W. J. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease / W. J. Welch // *Physiological reviews*. – 1992. – Vol. 72, № 4. – P. 1063–1081.
274. Wolansky, M. J. Critical consideration of the multiplicity of experimental and organismic determinants of pyrethroid neurotoxicity: a proof of concept. / M. J.

Wolansky, R. Tornero-Velez // *Journal of toxicology and environmental health.* – 2013. – Vol. 16, № 8. – P. 453–490.

275. Wood, M. Halothane-induced hepatic necrosis in triiodothyronine-pretreated rats / M. Wood, M. L. Berman, R. D. Harbison // *Anesthesiology.* – 1980. – Vol. 52, № 6. – P. 470–476.

276. Yabe, T. NF- $\kappa$ B activation is required for the neuroprotective effects of pigment epithelium-derived factor (PEDF) on cerebellar granule neurons / T. Yabe, D. Wilson, J. P. Schwartz // *Journal of Biological Chemistry.* – 2001. – Vol. 276, № 46. – P. 43313–43319.

277. Yoshimura, S. Inhibition of neutral sphingomyelinase activation and ceramide formation by glutathione in hypoxic PC12 cell death / S. Yoshimura, Y. Banno, S. Nakashima // *Journal of Neurochemistry.* – 1999. – Vol. 73, № 2. – P. 675–683.

278. Younes, M. Enhanced in vivo-lipid peroxidation associated with halothane hepatotoxicity in rats / M. Younes, B. Heger, K. P. Wilhelm, C. P. Siegers // *Journal of Pharmacology and Toxicology.* – 1988. – Vol. 63, № 1. – P. 52–56.

279. Zhang, J. G. Characterization of an in vitro model for the study of the short and prolonged effects of myocardial ischaemia and reperfusion in man / J. G. Zhang, S. Chosh, C. D. Ockleford, M. Galinanes // *Clinical Science.* – 2000. – Vol. 99, № 5. – P. 443–453.

280. Zhu, X. H. Intermittent hypoxia promotes hippocampal neurogenesis and produces antidepressant-like effects in adult rats / X. H. Zhu, H. C. Yan, J. Zhang [et al.] // *The Journal of Neuroscience.* – 2010. – Vol. 30, № 38. – P. 12653–12663.