

<https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-4-38-48>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА НА ОСНОВЕ ФЕНИЛКАРБАМАТА

А.С. Мелехова, А.В. Бельская, В.Н. Зорина[✉], М.В. Мельникова, Л.Г. Кубарская, О.Н. Гайкова

Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Карбаматы широко используются в фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве и бытовой химии. Являясь обратимыми ингибиторами холинэстераз, карбаматы могут вызывать развитие генерализованного судорожного синдрома. Несвоевременное лечение способствует формированию стойких неврологических нарушений. Для разработки и адекватной оценки специфической активности в доклинических исследованиях новых средств купирования судорожного синдрома при острых интоксикациях данной группой веществ необходима легко воспроизводимая экспериментальная модель судорожного синдрома на основе карбаматов.

Цель. Разработка экспериментальной модели генерализованного судорожного синдрома на крысах с применением фенолкарбамата как модельного токсиканта для тестирования в доклинических исследованиях средств терапии при отравлении ингибиторами холинэстераз.

Материалы и методы. Исследование проведено на беспородных половозрелых крысах-самцах возрастом 3 месяца (80 животных), разделенных на 4 группы (3 опытные и 1 контрольная). На первом этапе сравнивали параметры судорожного синдрома, вызываемого модельными токсикантами: фенолкарбаматом в дозе 1 мг/кг м.т., коразолом в дозе 65 мг/кг м.т. и тиосемикарбазидом в дозе 8 мг/кг м.т. Изучены: двигательная активность (в тесте «Открытое поле»), нейромоторные функции (тест на силу хвата), когнитивные функции (по условной реакции пассивного избегания болевого раздражения — УРПИ) и показатели сердечно-сосудистой системы (оценка ЭКГ и ритмограммы сердца). Выраженность судорожного синдрома определяли по шкале Racine. Дополнительно оценивали структуру тканей мозга гистологическими методами. На втором этапе изучали биохимические показатели в 3-х опытных (с токсикантами) и контрольной группах. В сыворотке крови изучены некоторые биохимические показатели, оценивающие функцию печени, почек, прооксидантной и антиоксидантной систем. На третьем этапе изучали активность холинэстеразы в крови и головном мозге у 30 контрольных и 30 опытных крыс после воздействия фенолкарбамата. Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью Statistica v.10.

Результаты. При моделировании судорожного синдрома у крыс по времени наступления латентного периода, продолжительности и интенсивности судорог фенолкарбамат сопоставим с коразолом. При реализации модели зафиксировано достоверное снижение частоты сердечных сокращений через 48 ч после введения. В тесте УРПИ установлено, что введение увеличивает время первого захода в темный отсек до обучения. Достоверные изменения маркеров функции печени (АЛТ, билирубин, холестерин, триглицериды), перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы (МДА, ГП) подтверждают наличие комплексных механизмов развития судорог и неврологических нарушений. Результаты гистологического исследования тканей мозга свидетельствуют, что фенолкарбамат провоцирует выраженные нарушения структуры мозга в эксперименте на крысах.

Выводы. Разработанная экспериментальная модель судорожного синдрома у крыс на основе фенолкарбамата проста в воспроизведении и может эффективно применяться в доклинических исследованиях новых средств купирования судорожного синдрома при отравлении ингибиторами холинэстераз.

Ключевые слова: карбамат; судорожный синдром; ингибитор холинэстеразы; экспериментальная модель; доклинические исследования

Для цитирования: Мелехова А.С., Бельская А.В., Зорина В.Н., Мельникова М.В., Кубарская Л.Г., Гайкова О.Н. Новая экспериментальная модель судорожного синдрома на основе фенолкарбамата. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2024;26(4):38–48. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-4-38-48>

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания Федерального медико-биологического агентства по теме НИР «Изучение эффективности и безопасности субстанции аминоксифра вальпроовой кислоты как лекарственного препарата фармакотерапии токсического судорожного синдрома» (шифр «Антистатус», рег. № 121041500281-1), по теме «Разработка оригинальных фармацевтических субстанций — антагонистов ингибиторов холинэстеразы» (шифр «Проводник», рег. № 124022400179-8).

Соответствие принципам этики: исследование выполнено с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Проведение исследований одобрено на заседании биоэтического комитета ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России (протокол № 2/23 от 06.04.2023).

Благодарности: заслуженному врачу Российской Федерации, д-ру мед. наук, профессору Петрову А.Н. за определение направления исследования и канд. мед. наук Вереде А.Б. за статистическую обработку данных.

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Зорина Вероника Николаевна nilimmun@yandex.ru

Статья поступила: 10.09.2024 **После доработки:** 01.11.2024 **Принята к публикации:** 04.11.2024

EXPERIMENTAL MODEL OF CONVULSIVE SYNDROME BASED ON PHENYL CARBAMATE

Aleksandra S. Melekhova, Alisa V. Belskaya, Veronika N. Zorina[✉], Margarita V. Melnikova, Larisa G. Kubarskaya, Olga N. Gaikova

Golikov Research Center of Toxicology, Saint-Petersburg, Russia

Introduction. Carbamates are widely used in the pharmaceutical industry, agriculture, and household chemicals. Being reversible cholinesterase inhibitors, carbamates can cause the development of generalized convulsive syndrome. Untimely treatment contributes to the emergence of persistent neurological disorders. In order to develop and adequately assess in preclinical studies the specific activity of new drugs for the relief of convulsive syndrome in acute intoxication with this group of substances, an easily reproducible experimental model of convulsive carbamate-induced syndrome is required.

Objective. Development of an experimental model of generalized convulsive syndrome in rats using phenylcarbamate as a model toxicant for testing in pre-clinical studies of therapies for poisoning with cholinesterase inhibitors.

Materials and methods. The study was performed using mongrel sexually mature male rats, aged 3 months (80 animals), divided into 4 groups (3 experimental and 1 control). At the first stage, the parameters of convulsive syndrome caused by model toxicants were compared: phenylcarbamate 1 mg/kg bw, corazol 65 mg/kg bw, and thiosemicarbazide 8 mg/kg bw. The following parameters were studied: motor activity (open field test), neuromotor functions (grip strength test), cognitive functions (conditioned avoidance responses, CAR), and cardiovascular indicators (ECG and cardiac rhythmogram assessment). The severity of the convulsive syndrome was identified by Racine stages. Additionally, the structure of brain tissues was evaluated by histological methods. second

© А.С. Мелехова, А.В. Бельская, В.Н. Зорина, М.В. Мельникова, Л.Г. Кубарская, О.Н. Гайкова, 2024

stage, biochemical parameters were studied in three experimental (with toxicants) and control groups. Some biochemical parameters were studied in the blood serum, assessing the function of the liver, kidneys, prooxidant and antioxidant systems. At the third stage, the activity of cholinesterase in the blood and brain was studied in 30 control and 30 experimental rats after phenylcarbamate exposure. Statistical processing of the results was carried out using Statistica v.10.

Results. When modeling convulsive syndrome in rats, phenylcarbamate is comparable to corazol in terms of the onset of the latency period, duration and intensity of seizures. When implementing the model, a significant decrease in heart rate was recorded 48 h after administration. The CAR test found that the introduced substance increases the time of the first entry into the dark compartment before training. Significant changes in markers of liver function (ALT, bilirubin, cholesterol, triglycerides), lipid peroxidation and the antioxidant system (MDA, GPx) confirm the complexity of mechanisms responsible for the development of seizures and neurological disorders. The results of histological examination of brain tissues indicate that phenylcarbamate induces pronounced disorders of the brain structure in an experiment on rats.

Conclusions. The developed experimental model of phenylcarbamate-based convulsive syndrome in rats is easy to reproduce, thus being recommended for preclinical studies of new drugs for the relief of convulsive syndrome in poisoning with cholinesterase inhibitors.

Keywords: carbamate; convulsive syndrome; cholinesterase inhibitor; experimental model; preclinical studies

For citation: Melekhova A.S., Belskaya A.V., Zorina V.N., Melnikova M.V., Kubarskaya L.G., Gaikova O.N. Experimental model of convulsive syndrome based on phenylcarbamate. *Extreme Medicine*. 2024;26(4):38–48. <https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-4-38-48>

Funding: the work was performed within the framework of the state assignment of the FMBA on the research topic "Study of the effectiveness and safety of the valproic acid aminoester substance as a drug for pharmacotherapy of toxic convulsive syndrome" (cipher Antistatus, reg. No. 121041500281-1), on the topic "Development of original pharmaceutical substances antagonists of cholinesterase inhibitors" (cipher Conductor, reg. No. 124022400179-8).

Compliance with ethical principles: the study was carried out in compliance with the rules of bioethics approved by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Experimental and Other Purposes. The research was approved at a meeting of the Bioethical Committee of the Golikov Research Center of Toxicology (Protocol No. 2/23 dated 6 Apr. 2023).

Acknowledgments: the authors express their gratitude to Prof. A.N. Petrov, Honored Physician of the Russian Federation, Dr. Sci. (Med.), for determining the research direction and to A.B. Verveda, Cand. Sci. (Med.), for statistical data processing.

Potential conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

✉ Veronika N. Zorina nilimimun@yandex.ru

Received: 10 Sep. 2024 **Revised:** 1 Nov. 2024 **Accepted:** 4 Nov. 2024

ВВЕДЕНИЕ

Карbamаты являются производными карбаминовой кислоты, амино- и карбоксильные окончания которой замещены структурно разнообразными алкильными, арильными или алкил-арильными группами [1]. Карbamаты структурно сходны с амидами и эфирами, их химическая и конформационная стабильность, устойчивость к протеолизу, а также способность многих представителей группы проходить через клеточную мембрану и гематоэнцефалический барьер обуславливают все более широкое применение карbamатов в фармацевтической промышленности как в качестве активного компонента лекарственных форм, так и в качестве носителей, заменяющих пептиды в готовых лекарственных формах [2]. Помимо фармацевтической промышленности, карbamаты активно применяются в сельском хозяйстве и в составе бытовой химии, что нередко служит причиной случайных или преднамеренных отравлений.

Ряд производных карбаминовой кислоты относится к высокотоксичным соединениям, обратимым (в отличие от фосфорорганических соединений — ФОС) ингибиторам холинэстераз, приводящим к формированию так называемого «холинэргического кризиса», сопряженного с развитием генерализованного судорожного синдрома, в тяжелых случаях заканчивающегося комой и летальным исходом. При действии карbamатов во время острой интоксикации за счет быстрого гидролиза связи C=O (декарбонилирования фермента) активность холинэстераз у выживших восстанавливается в течение нескольких часов, полное восстановление функции холинэстераз наблюдается через 24–48 ч [3]. Вместе с тем при отравлениях ингибиторами холинэстеразы наблюдаются

воспалительные реакции в тканях нервной системы, апоптоз нервных клеток и нейродегенеративные изменения, потенцирующие развитие стойких неврологических нарушений у выживших.

Необходимо отметить, что смертность и инвалидизация при остром отравлении карbamатами достаточно высоки. Так, согласно данным ВОЗ от 2019 года, только в результате преднамеренного суицида с применением карbamатов в мире умерло более 1600 человек, количество несмертельных отравлений составляло от нескольких сотен тысяч до нескольких миллионов в год (по статистике разных стран). При неэффективном или несвоевременном лечении у значительной части выживших впоследствии часто наблюдались тремор, головокружения, головные боли, частичная потеря памяти, эмоциональная лабильность, спутанность сознания, когнитивные нарушения, периферическая нейропатия и вегетативная дисфункция [4].

Следует отметить, что при лечении острого отравления карbamатами применяются те же методы, что и при отравлении ФОС (атропинизация, введение препаратов бензодиазепинового ряда для купирования судорожного синдрома в первые 10–20 мин после воздействия) и методы лечения острых приступов истинной эпилепсии при развитии рефрактерных к бензодиазепинам судорог (введение барбитуратов, анестетиков) [5]. Эффективность антидотов высока только при их применении на самых ранних стадиях отравления [6].

В последнее время появляется все больше подтверждений тому, что патогенез отравлений карbamатами и ФОС включает в том числе проявления нехолинэргической токсичности посредством индукции активных форм кислорода (АФК) и образования карбонилированных

белков. ФОС и карбаматы также взаимодействуют с митохондриальными транслокационными белками, с рецепторами андрогенов, эстрогенов и глюкокортикоидов, участвующих в метаболизме холестерина, негативно влияя на их функции, при этом особенностью механизмов и выраженностью воздействия на организм у ФОС и карбаматов различаются [7, 8]. Это обосновывает необходимость разработки новых средств терапии отравлений карбаматами. Однако она невозможна без применения адекватных экспериментальных моделей для оценки специфической активности новых средств в доклинических исследованиях. На сегодняшний день создание противосудорожных средств осуществляется преимущественно для терапии истинной эпилепсии; в качестве экспериментальных моделей используется максимальный электрошок, введение коразола и др. [9]. Для моделирования генерализованного судорожного синдрома на животных в эксперименте в качестве токсикантов-пестицидов, влияющих на активность холинэстеразы, обычно используют фосфорорганические соединения (диазинон, малаоксон, хлорфенвинфос и дихлофос) [10]. Экспериментальные модели генерализованного судорожного синдрома с применением карбаматов, предъявляющие значительно меньшие требования к обеспечению безопасности при проведении доклинических исследований, не описаны в научных публикациях.

Таким образом, цель работы — разработка экспериментальной модели генерализованного судорожного синдрома на крысах с применением фенилкарбамата как модельного токсиканта для тестирования в доклинических исследованиях средств терапии при отравлении ингибиторами холинэстераз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на белых беспородных 3-месячных крысах-самцах массой 150–250 г, полученных из ФГУП «ПЛЖ «Рапполово» национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская область. Животные содержались в стандартных условиях вивария [11]. Поддерживался 12-часовой цикл освещения, корм и вода выдавались *ad libitum*.

В серии предварительных экспериментов определена среднесмертельная доза (LD_{50}) фенилкарбамата (ФК) при внутрибрюшинном и внутрижелудочном путях введения крысам, составляющая $1,43 \pm 0,12$ и $10,0 \pm 0,77$ мг/кг массы тела соответственно [12]. Для лучшей воспроизводимости экспериментальной модели судорожного синдрома в доклинических исследованиях был выбран внутрибрюшинный путь введения фенилкарбамата, так как данный путь является альтернативным внутривенному пути введения и обеспечивает 100% биодоступность препарата. В наших предыдущих работах также была экспериментально подобрана судорожная доза фенилкарбамата 1 мг/кг м.т., обеспечивающая индукцию судорожного синдрома у 100% животных при минимальном проценте смертности.

Эксперимент состоял из трех последовательных этапов.

На первом этапе проводили оценку характера судорожного синдрома. Для этого лабораторные животные в зависимости от применяемого судорожного агента были распределены на 4 группы и контрольную группу с введением 0,9% раствора натрия хлорида, по 20 голов в каждой группе. Моделирование судорожного синдрома в первой группе проведено с помощью обратимого

ингибитора ацетилхолинэстеразы из группы карбаматов, а именно фенилового эфира карбаминовой кислоты (далее фенилкарбамат) 1 мг/кг м.т. Оригинальное соединение синтезировано в ФГБУ «НКЦТ им. С.Н. Голикова» ФМБА России под руководством Беспалова А.Я. и защищено патентом Российской Федерации на изобретение [13]. Во второй и третьей группах в качестве модельных токсикантов использовали, соответственно: Коразол (Пентилентетразол, 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-тетразоло(1,5-а)азепина, $C_6H_{10}N_4$), производитель Sigma-Aldrich, в дозе 65 мг/кг м.т. и Тиосемикарбазид (амид гидразинотионкарбоновой кислоты, CH_5N_3S) в дозе 8 мг/кг м.т., ресинтезирован в лаборатории синтеза ФГБУ «НКЦТ им. С.Н. Голикова» ФМБА России [14]. В каждой экспериментальной группе 10 животных было задействовано для изучения двигательной активности, нейромоторных функций, сердечно-сосудистой системы и 10 — для оценки когнитивных функций.

Выраженность судорожного синдрома после введения токсикантов определяли визуально по модернизированной шкале Racine [15].

Оценку двигательной активности, тревожности проводили с помощью компьютеризированного теста «Открытое поле», разработанного C.S. Hall (1936) [16] с помощью системы VideoMot2, TSE (Германия). Оценку поведения проводили через 24, 48 ч. Регистрировали 7 компонентов поведения в течение 2-х мин наблюдения: горизонтальную и вертикальную (стойки) активность, груминг, скорость движения животных и расстояние, пройденное животным в течение эксперимента, общую двигательную активность, количество движений в центре площадки и на периферии.

Изучение нейромоторных функций, клинически выражающихся общей слабостью, астенией, в экспериментальных условиях проводили через 24, 48 ч с помощью анализатора системы хватки «Bioseb GS3», позволяющего автоматически регистрировать силу захвата решетки передними лапами крысы и точный момент отпускания.

Когнитивные функции оценивали с помощью регистрации параметров условной реакции пассивного избегания болевого раздражения (УРПИ) через 2, 24 и 48 ч после обучения в двухкамерной установке PACS-30 (Columbus Instruments, США). Регистрировали следующие параметры: время первого посещения темной камеры (до обучения для оценки наличия у животного норкового рефлекса), латентный период захода в темную наказуемую камеру, время пребывания в светлой и темной камерах. Общее время эксперимента для каждого животного — 120 с. Наряду с временными параметрами УРПИ в каждой группе при повторных тестированиях регистрировали количество обучившихся животных, у которых латентный период захода в темную камеру был более 120 с (продолжительность наблюдения за животными).

Для оценки деятельности сердечно-сосудистой системы проводили электрокардиографическое исследование (ЭКГ) во II отведении на приборе электрокардиограф ветеринарный «Поли-Спектр-8В» («Нейрософт», Россия) через 24, 48 ч. Измеряемые показатели: частота сердечных сокращений (ЧСС), величина зубца R, интервалы PQ и QT, рассчитываемые по II стандартному отведению. На этом же приборе осуществляли оценку ритмограммы сердца с помощью кардиоинтервалографии по Баевскому (КИГ) [17].

У животных, подвергнутых запланированной эвтазии и некропсии, на первом этапе эксперимента был

выполнен гистологический анализ головного мозга. Срезы органов были обезвожены, пропитаны парафином и окрашены гематоксилином и эозином, с последующим исследованием методом световой микроскопии на микроскопе Leica DM1000, Leica Microsystems Wetzlar GmbH (Германия) при 400-кратном увеличении. Для эвтаназии применяли ингаляцию CO₂ с использованием оборудования Open Science (Россия).

На втором этапе эксперимента проводили оценку некоторых биохимических показателей, а также ионного состава крови животных. В группе «фенилкарбамат» дополнительно оценивали антиоксидантный статус в сравнении с интактной группой. Для этого была сформирована новая выборка, в которой судорожный синдром моделировали фенилкарбаматом в дозе 1 мг/кг м.т., коразолом в дозе 65 мг/кг м.т., тиосемикарбазидом в дозе 8 мг/кг м.т. В зависимости от времени забора крови (24, 48 ч; 7 и 14 сут) лабораторные животные для контроля исследуемых показателей были разделены на 4 группы, включая интактную группу, по 24 головы в каждой.

Кровь от животных для биохимического анализа забирали в сухой вакутейнер через 24, 48 ч, на 7 и 14 сут. Далее отобранный биологический материал центрифугировали (центрифуга Z 326 K, производства Германии, серия 66110159) при 3000 об/мин, при 4 °C 10 мин. Для дальнейших исследований отбирали надосадочную жидкость — сыворотку. Исследовали прозрачную сыворотку без признаков гемолиза. Определение биохимических показателей (триглицеридов, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего холестерина, мочевины, общего билирубина) проводили на биохимическом анализаторе А-25 фирмы «BioSystems» (Испания) с использованием наборов АО «Вектор-Бест» (Россия). Калибровку анализатора и внутренний контроль качества исследований производили на калибровочных и контрольных материалах АО «Вектор-Бест» (Россия).

Для изучения антиоксидантной системы использовали плазму крови и эритроцитарную взвесь, получаемую центрифугированием цельной крови при 3000 g на протяжении 3 мин с последующей трехкратной отмывкой эритроцитов физиологическим раствором и поэтапным центрифугированием при указанных параметрах. Из отмытых эритроцитов готовили гемолизат соответствующим для каждой методики образом. В гемолизате эритроцитов по методу W.H. Habig и W.B. Jakoby [19] определяли показатели системы антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы (СОД) [18]; глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР). Для оценки процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) [20], а также стабильного конечного продукта ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) [21]. Исследование проведено на биохимическом анализаторе «А-25» (BioSystems SA).

Для изучения механизма действия фенилкарбамата на третьем этапе оценивали активность холинэстеразы в крови и головном мозге. Активность ацетилхолинэстеразы определяли по методу Эллмана [22]. Экспериментальные животные были разделены на две группы: контрольная 30 голов и опытная 30 голов. Крысам-самцам из опытной группы внутрибрюшинно вводили фенилкарбамат в дозе 1 мг/кг м.т. Животным из группы контроля вводили внутрибрюшинно 0,9% раствор натрия хлорида. После декапитации у исследуемых групп проводили забор крови и тканей головного мозга через определенные интервалы времени: 10, 30, 60 мин, 6 и 24 ч. На одну временную точку задействовали 6 животных.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли с помощью программного обеспечения для статистического анализа Statistica v.10. Для оценки достоверности различий между группами в функциональных и биохимических исследованиях применяли параметрический дисперсионный анализ (ANOVA). Для оценки достоверности различий в динамике изменения активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге и в крови крыс использовали непараметрический критерий Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основные характеристики судорожного синдрома, наблюдаемые при введении фенилкарбамата внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг м.т., по сравнению с эффектами, наблюдаемыми при введении коразола и тиосемикарбазид (ТСК), представлены в таблице 1.

Время наступления латентного периода судорог у животных из группы, получавшей фенилкарбамат в дозе 1 мг/кг м.т., сопоставимо с аналогичным параметром у крыс-самцов, получавших коразол в дозе 65 мг/кг м.т. (табл. 1). Длительный латентный период появления судорог, проявляющихся не только в виде клонических, но и в виде тонических судорог, а также экстензий, отмечен только у животных из группы, получившей тиосемикарбазид. В группе животных при использовании фенилкарбамата интенсивность судорожного синдрома 5-го уровня по Racine регистрировали у 60% животных, что сопоставимо с животными из групп сравнения (применение коразола и тиосемикарбазид). В то же время интенсивность судорожного синдрома 6-го уровня по Racine регистрировали в большей степени у животных из групп с коразоловой и тиосемикарбазидной моделями. Необходимо отметить, что продолжительность судорожного синдрома при 5-м и 6-м уровне по Racine у животных из группы с фенилкарбаматной моделью была сопоставима с данными у животных из группы с коразоловой моделью судорожного синдрома. При этом у животных из группы с тиосемикарбазидной моделью продолжительность судорожного синдрома как при 5-м, так и 6-м уровне

Таблица 1. Сравнительная оценка латентного периода и продолжительности судорожного синдрома исследуемых конвульсантов

№	Показатель	ФК, 1мг/кг м.т. n = 20	Коразол, 65 мг/кг м.т. n = 20	ТСК, 8 мг/кг м.т. n = 20
1	Латентный период проявления судорог, мин	5,33 ± 0,33	8,11 ± 0,6	106,8 ± 7,34
2	Продолжительность судорожного синдрома при 5-м уровне по Racine, мин	30 ± 0,6	35 ± 1,9	129 ± 9,0
3	Продолжительность судорожного синдрома при 6-м уровне по Racine, мин	13 ± 1,5	12 ± 1,0	150 ± 7,1

Таблица подготовлена авторами по собственным данным

Примечание: данные представлены в формате среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$).

по Racine была гораздо длительнее. При этом летальность в группах «фенилкарбамат» и «коразол» составляла 20%, а в группе тиосемикарбазид — 33%.

При оценке поведения и двигательной активности с помощью многоцелевой системы открытого поля установлено, что у животных, получавших фенилкарбамат, через 24 ч после введения наблюдалось статистически значимое угнетение параметров двигательной активности в 2 раза по сравнению с контрольной группой животных. Кроме того, при введении коразола наблюдалось статистически значимое увеличение общей двигательной активности в 2,4 раза, количества горизонтальных перемещений в 4,3 раза и актов груминга в 2 раза по сравнению с контролем. У крыс, получавших тиосемикарбазид, выявлено статистически значимое возрастание общей двигательной активности в 1,2 раза, количества горизонтальных перемещений в 1,9 раза, количества стоек в 3,1 раза, актов груминга в 1,9 раза, среднего расстояния в 2,5 раза и средней скорости в 2,6 раза, двигательной активности на периферии в 6,6 раза.

Статистически значимых различий между показателями силы хвата у животных, получавших судорожные дозы фенилкарбамата или других токсикантов, по сравнению с контрольной группой не обнаружено.

При оценке когнитивных нарушений в тесте УРПИ установлено, что у животных, получивших фенилкарбамат в судорожной дозе, зарегистрировано увеличение времени первого захода в темный отсек до обучения. Тиосемикарбазид не оказывал статистически достоверного влияния на обучение ни при введении токсиканта за сутки до обучения, ни при введении за сутки после обучения. Коразол, введенный за 24 ч до обучения, согласно полученным результатам, вызывал дозозависимое нарушение краткосрочной памяти по механизму влияния на процессы фиксации информации (след памяти).

При изучении функции сердечно-сосудистой системы зафиксировано достоверное снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) через 48 ч после введения фенилкарбамата ($403,0 \pm 18,8$ против $484,5 \pm 8,7$ уд. мин в контрольной группе). При оценке индекса напряженности по данным кардиоинтервалографии через 24 ч отмечены достоверные отличия от значений в группе, получавшей фенилкарбамат ($47\ 715,2 \pm 10\ 714,0$ против $13\ 889,6 \pm 4623,0$ у.е.) и в группе, получавшей тиосемикарбазид ($14\ 814,5 \pm 6278,8$ против $73\ 743 \pm 16\ 103,0$ у.е.).

При гистологическом исследовании образцов тканей головного мозга у животных, получивших фенилкарбамат, через 24 ч после введения выявлено большое количество темных нейронов коры вытянутой формы без четкой границы ядра, ядрышко не визуализируется по сравнению с группой контроля (рис. 1).

В белом веществе наблюдали очаговое разрежение нейропила, преимущественно за счет отростков клеток (астроцитов, олигодендроцитов или нейронов). Вены в белом веществе растянуты, заполнены эритроцитами, плохо воспринимающими эозин, без четких границ. Большинство нейронов ствола темные, сморщенные, но на этом фоне встречаются отдельные клетки в состоянии острого набухания (рис. 2). В тканях мозжечка клетки Пуркинье темные, ядро и ядрышко не определяются, наблюдаются очаги паренхиматозного кровоизлияния, «выпадения» клеток, очаги электролитического некроза; соответствующие данные представлены на рисунке 3.

Обращает на себя внимание, что фенилкарбамат, не приводящий к развитию выраженных нарушений двигательной активности и когнитивных функций в первые 24 ч после введения (в отличие токсикантов групп сравнения: коразола и тиосемикарбазид), при оценке в тестах «открытое поле» и «УРПИ» также негативно влияет на целый ряд биохимических показателей по прошествии двух недель после воздействия. При этом после воздействия коразола наблюдали единичные и менее выраженные сходные изменения.

Данные биохимического состава крови экспериментальных животных в течение 24 часов и в более длительный период представлены в таблице 2.

После воздействия фенилкарбамата в первые сутки фиксировали повышение триглицеридов, которое нормализовалось к концу экспериментального периода наблюдений. Часть изменений происходила по типу декомпенсации: избыточное повышение концентрации биохимического показателя и последующее его резкое снижение в ответ на воздействие токсиканта. В тоже время на 14-е сутки выявлено снижение средних значений по таким показателям, как АЛТ, ЛДГ. Также на 14-е сутки наблюдали повышение ЩФ, мочевины, билирубина и снижение уровней холестерина.

При оценке ионного состава крови (табл. 3), характеризующего, помимо прочего, функцию почек, установлено, что изменения, вызываемые фенилкарбаматом в первые сутки (снижение концентрации ионов натрия

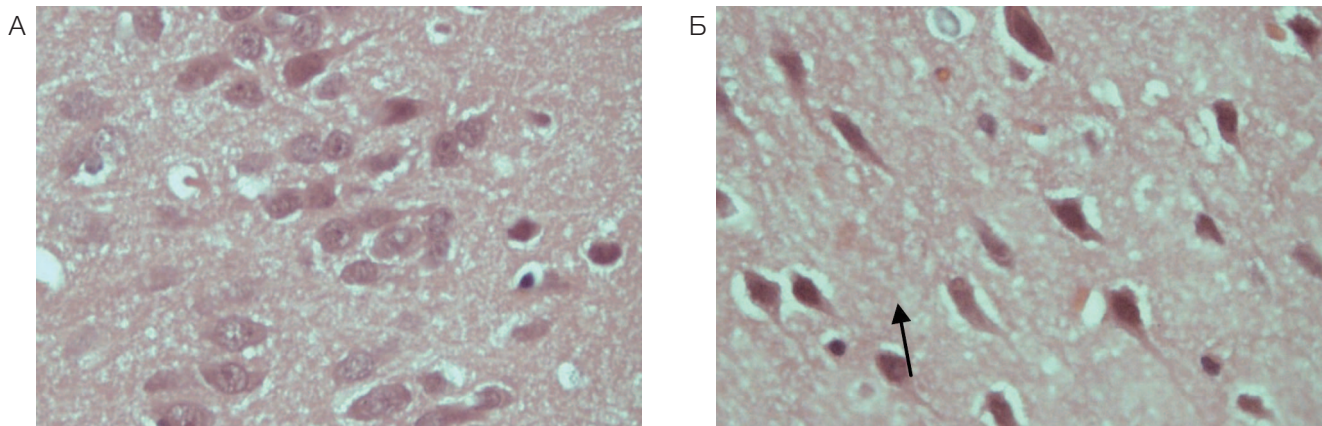


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 1. Кора лобной доли головного мозга крысы (увеличение $\times 400$): А — контрольное животное; Б — через 24 часа после введения фенилкарбамата
Примечание: стрелкой указан темный нейрон вытянутой формы без четкой границы ядра.

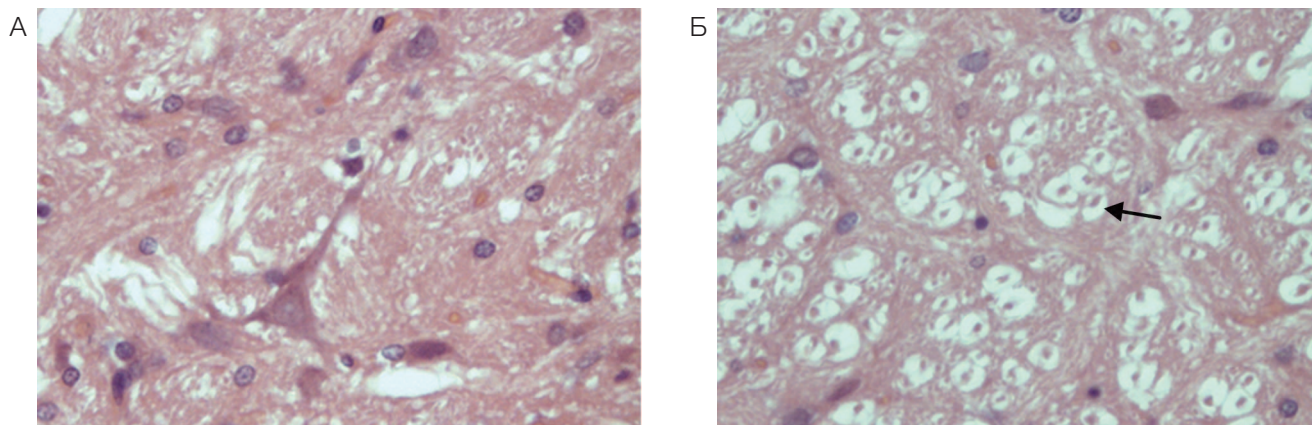


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 2. Ствол головного мозга крысы (увеличение $\times 400$): А — контрольное животное; Б — через 24 часа после введения фенолкарбамата

Примечание: стрелкой указаны клетки в состоянии острого набухания.

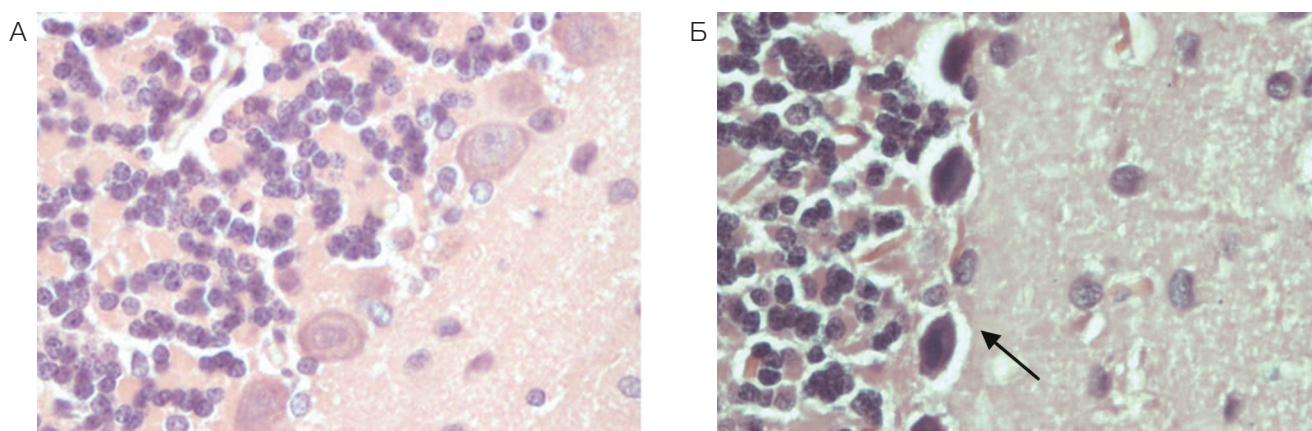


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 3. Мозжечок крысы (увеличение $\times 400$): А — контрольное животное; Б — через 24 часа после введения фенолкарбамата

Примечание: стрелкой указаны клетки Пуркинье темные, ядро и ядрышко не определяются.

и магния), аналогичны эффектам после воздействия тиосемикарбазида, что может свидетельствовать об избыточной затрате ионов в момент судорожного синдрома.

Поскольку фенолкарбамат является ингибитором ацетилхолинэстеразы (АХЭ), необходимо было оценить степень его влияния на активность АХЭ в разработанной модели судорожного синдрома. В таблице 4 приведены результаты определения уровня АХЭ в цельной крови и процентное соотношение ингибированной АХЭ в крови и головном мозге после введения фенолкарбамата в судорожной дозе.

При анализе данных, представленных в таблице 4, выявлено достоверное угнетение АХЭ в головном мозге и в цельной крови белых крыс в течение 6 часов после введения фенолкарбамата. Через 24 ч происходит полное восстановление активности фермента. Важно отметить, что через 6 часов после введения фенолкарбамата при сохраняющейся ингибиции АХЭ на 42,3 и 30,5% в центральной нервной системе и в периферической крови соответственно судороги у крыс полностью прекращались.

Дополнительно изучено состояние отдельных компонентов антиоксидантной системы и маркеров перекисного окисления липидов в разные временные периоды после воздействия фенолкарбамата в дозе 1 мг/кг м.т.

Установлено, что в первые сутки после введения животным фенолкарбамата достоверно изменяются три из четырех изученных показателей. При этом уровень

малонового диальдегида в группе «фенолкарбамат» в первые сутки наблюдения снижен по сравнению с контрольной группой почти в 2 раза, но к 14 сут наблюдений его уровень значительно превышал контрольные показатели, в то же время активность глутатионпероксидазы демонстрирует противоположную направленность изменений по сравнению с контролем (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Модели с применением ингибиторов холинэстеразы на основе ФОС имеют свои особенности, и при разработке антидотов их использование предпочтительнее, чем моделей для тестирования противоэпилептических препаратов [10]. Наши исследования продемонстрировали, что воздействие фенолкарбамата на организм экспериментальных животных также имеет особенности, которые должны учитываться как при изучении патогенеза отравлений, так и при разработке средств лечения. Изучение ключевых характеристик судорожного синдрома при остром отравлении в течение 2 часов продемонстрировало, что в целом модель на основе фенолкарбамата (внутрибрюшинное введение) сопоставима с распространенной в практике доклинических исследований скрининговой судорожной моделью на основе коразола. При использовании фенолкарбамата в качестве модельного токсиканта интенсивность судорог была

Таблица 2. Влияние изучаемых судорожных токсикантов на биохимические показатели в крови животных в различные временные периоды

Изучаемые показатели	Период наблюдения	Интактная группа <i>n</i> = 24	ФК, 1 мг/кг м.т <i>n</i> = 24	Коразол, 65 мг/кг м.т. <i>n</i> = 24	ТСК, 8 мг/кг м.т. <i>n</i> = 24
Триглицериды, ммоль/л	24 ч	0,32 ± 0,03	0,52 ± 0,05*	0,45 ± 0,06	0,62 ± 0,04*
	48 ч	1,07 ± 0,16	1,24 ± 0,17	0,68 ± 0,06*	0,96 ± 0,08
	7 сут	1,43 ± 0,26	0,87 ± 0,08	1,12 ± 0,10	1,32 ± 0,20
	14 сут	0,83 ± 0,07	1,09 ± 0,14	1,32 ± 0,13*	0,76 ± 0,09
ЛДГ, Ед/л	24 ч	1001,3 ± 114,9	916,4 ± 112,6	870,8 ± 89	754,6 ± 32,3
	48 ч	909,2 ± 78,6	894,2 ± 55,2	792,4 ± 52,5	867 ± 62,4
	7 сут	894,4 ± 61,2	816,1 ± 83,3	1046,9 ± 79,9	929,9 ± 71,5
	14 сут	935,7 ± 67,3	686,8 ± 63,2*	759,4 ± 81,3	783,7 ± 67,4
АЛТ, Ед/л	24 ч	52,8 ± 2,2	56,4 ± 5,4	56,4 ± 2,3	62,5 ± 5,4
	48 ч	60,7 ± 3,1	62,1 ± 2,7	65,0 ± 4,4	58,4 ± 2,7
	7 сут	71,4 ± 2,5	69,2 ± 3,9	79,4 ± 7,1	70,8 ± 4,1
	14 сут	55,5 ± 3,2	43,6 ± 2,1*	48,3 ± 1,6	53,3 ± 6,2
АСТ, Ед/л	24 ч	132,8 ± 7,6	156,6 ± 12,7	146,0 ± 5,1	146,5 ± 7,7
	48 ч	143,5 ± 8,3	153,4 ± 5,2	150,7 ± 7,9	155,2 ± 7,4
	7 сут	169,7 ± 7,9	160,9 ± 12,2	169,1 ± 10,9	170,9 ± 10,7
	14 сут	140,3 ± 7,4	142,7 ± 6,7	125,7 ± 6,9	150,3 ± 14,4
ЩФ, Ед/л	24 ч	215,8 ± 12,5	179,6 ± 11*	198,1 ± 15,3	277,3 ± 20,4*
	48 ч	292,0 ± 22,8	328,1 ± 15,9	256,2 ± 25,4	258 ± 29,3
	7 сут	302,7 ± 27,9	269,7 ± 23,2	305,3 ± 34,3	343 ± 25,8
	14 сут	210,4 ± 18,7	306,5 ± 24,7*	301,9 ± 22*	295 ± 46,1
Холестерин, ммоль/л	24 ч	1,61 ± 0,05	1,40 ± 0,08*	1,22 ± 0,08*	1,48 ± 0,08
	48 ч	1,14 ± 0,05	1,15 ± 0,06	1,15 ± 0,05	1,24 ± 0,05
	7 сут	1,10 ± 0,08	1,03 ± 0,04	1,24 ± 0,07	1,30 ± 0,08
	14 сут	1,61 ± 0,07	1,41 ± 0,08*	1,30 ± 0,07*	1,45 ± 0,08
Билирубин общий, мкмоль/л	24 ч	10,2 ± 0,4	12,0 ± 1,0	12,1 ± 1,3	14,1 ± 1,5*
	48 ч	18,2 ± 2,8	20,2 ± 1,8	10,5 ± 1,6*	17,6 ± 1,3
	7 сут	13,8 ± 2,8	14,4 ± 2,3	19,6 ± 2,1	17,9 ± 2,0
	14 сут	12,2 ± 1	17,6 ± 1,8*	18,2 ± 2,7*	14,3 ± 1,3
Мочевина, ммоль/л	24 ч	4,4 ± 0,2	3,6 ± 0,3*	4,0 ± 0,3	4,7 ± 0,3
	48 ч	4,5 ± 0,3	5,9 ± 0,3*	4,7 ± 0,6	4,2 ± 0,1
	7 сут	5,2 ± 0,5	5,4 ± 0,2	5,4 ± 0,2	6,4 ± 0,4
	14 сут	4,2 ± 0,2	5,6 ± 0,3*	4,9 ± 0,2*	3,9 ± 0,3

Таблица составлена авторами на основании собственных данных

Примечание: данные представлены в формате среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). * доверительная вероятность различий относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

выражена немного меньше (5-й уровень у >60 % животных), чем в группах сравнения (интенсивность 6-го уровня при введении коразола и тиосемикарбазида). Важно отметить, что степень выраженности судорог 5-го уровня по шкале Racine соответствует генерализованному судорожному синдрому у человека, что позволяет рекомендовать фенилкарбамат в качестве эффективного токсиканта для моделирования тяжелого судорожного синдрома при разработке средств лечения.

Выявленные изменения в частоте сердечных сокращений свидетельствуют о том, что при разработке средств лечения отравлений карбаматами целесообразно уделять внимание препаратам, влияющим на функции сердца и сосудов. При этом модель на основе введения фенилкарбамата может послужить основой для тестирования соответствующих подходов к лечению. В целом зафиксированные изменения показателей ЭКГ совпадают

с данными научной литературы, где описано выраженное влияние карбаматов и ФОС на показатели сердечно-сосудистой деятельности [23].

Поскольку стандартные тесты для оценки двигательной активности и когнитивных нарушений низкоинформативны при применении в первые сутки после воздействия фенилкарбаматом, можно предположить, что развивающиеся после подобных отравлений нарушения функции нервной системы имеют длительный и сложный патогенез и требуют либо более продолжительных наблюдений, либо применения альтернативных тестов при экспериментальном моделировании отравлений соединениями группы карбаматов.

Результаты гистологического исследования тканей мозга подтверждают, что, несмотря на отсутствие выраженных отклонений в тестах для оценки когнитивных нарушений у экспериментальных животных в первые

Таблица 3. Влияние изучаемых судорожных токсикантов на ионный состав крови животных в различные временные периоды судорожного синдрома

Изучаемые показатели	Период наблюдения	Интактная группа n = 24	Коразол, 65 мг/кг м.т. n = 24	ТСК, 8 мг/кг м.т. n = 24	ФК, 1 мг/кг м.т. n = 24
K ⁺ , (ммоль/л)	24 ч	4,7 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,6 ± 0,1	4,9 ± 0,1
	48 ч	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	4,8 ± 0,1
	7 сут	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,2 ± 0,1
	14 сут	5,2 ± 0,2	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,2	5,7 ± 0,2
Na ⁺ , (ммоль/л)	24 ч	160 ± 0,9	153,6 ± 1,5*	157,6 ± 1,4	155,4 ± 1,2*
	48 ч	155,3 ± 1,3	157,7 ± 1,7	158,6 ± 1,2	159,0 ± 1,0*
	7 сут	162,1 ± 1,3	161,1 ± 1,5	163,5 ± 1,0	162,7 ± 1,2
	14 сут	145,2 ± 1,6	142,9 ± 1,9	143 ± 1,7	142,9 ± 1,9
Cl ⁻ , (ммоль/л)	24 ч	96,6 ± 1,5	95,1 ± 1,1	99 ± 1,6	99,2 ± 1,1
	48 ч	96,9 ± 1,0	94,8 ± 1,7	96,6 ± 0,7	99,2 ± 1,2
	7 сут	93,6 ± 1,5	92,6 ± 1,6	92,9 ± 1,2	94,4 ± 1,1
	14 сут	93,8 ± 0,7	92,5 ± 1,4	92,3 ± 1,7	96,5 ± 1,1*
Фосфор (P), ммоль/л	24 ч	2,89 ± 0,07	2,82 ± 0,08	2,64 ± 0,07*	2,85 ± 0,08
	48 ч	2,65 ± 0,05	2,69 ± 0,10	2,49 ± 0,03*	2,94 ± 0,06*
	7 сут	2,14 ± 0,07	2,12 ± 0,05	2,14 ± 0,06	2,29 ± 0,07
	14 сут	2,85 ± 0,08	2,68 ± 0,06	2,65 ± 0,11	2,63 ± 0,04*
Магний (Mg), ммоль/л	24 ч	1,37 ± 0,25	0,35 ± 0,07*	0,94 ± 0,01	0,27 ± 0,02*
	48 ч	1,23 ± 0,19	0,89 ± 0,02	0,96 ± 0,02	0,90 ± 0,02
	7 сут	1,27 ± 0,19	0,88 ± 0,03	1,19 ± 0,18	0,90 ± 0,02
	14 сут	0,56 ± 0,03	0,63 ± 0,02	0,57 ± 0,05	0,67 ± 0,02*

Таблица составлена авторами на основании собственных данных

Примечание: данные представлены в формате среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). * доверительная вероятность различий относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

Таблица 4. Динамика изменений активности ацетилхолинэстеразы в головном мозге и в крови белых крыс после введения фенилкарбамата

Время	ФК (n = 6)		Контроль (n = 6)		% ингибирования, кровь	% ингибирования, мозг
	АХЭ, Е/мл крови	АХЭ, Е/мг мозга	АХЭ, Е/мл крови	АХЭ, Е/мг мозга		
10 мин	463,1 [365,4; 480,5]*	35,1 [32,7; 38,5]*	757,4 [606,4; 796,4]	78 [70,7; 80,4]	38,9 [36,6; 51,8]	54,9 [50,6; 58,1]
30 мин	370,9 [328,8; 396,2]*	66,3 [59,9; 79,7]*	563,7 [556,9; 634,9]	88,4 [87; 92,7]	34,2 [29,7; 41,7]	25,1 [9,9; 32,3]
60 мин	441,1 [292,1; 494,7]	63,4 [51,3; 70,6]*	690,1 [469,2; 700,0]	92 [90,6; 104,5]	36,1 [28,3; 57,7]	31,0 [23,2; 44,2]
6 ч	492,4 [418,8; 543,8]	68,1 [55,0; 86,2]	698,7 [686,8; 777,6]	120,3 [108; 144,6]	29,5 [22,2; 56,9]	43,4 [28,3; 54,3]
24 ч	946,3 [398,6; 996,6]	123,9 [111,8; 134,6]	763,6 [629,8; 798,3]	117,3 [109,9; 126,3]	-23,9 [-30,5; 47,8]	-5,6 [-14,7; 4,8]

Таблица составлена авторами на основании собственных данных

Примечание: данные представлены в формате медиана (Me), верхний (UQ) и нижний (LQ) квартили. * доверительная вероятность различий относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

Таблица 5. Влияние фенилкарбамата на уровень малонового диальдегида и показателей антиоксидантной системы в крови лабораторных животных

Экспериментальные группы	Период наблюдения	Изучаемые показатели			
		ВГ, мкмоль/л	МДА, нмоль/мл	СОД, ЕД/г Нь	ГП, Ед/ г Нь
Контроль	24 ч	0,28 ± 0,02	142,3 ± 8,3	1131,0 ± 51,3	34,7 ± 1,3
ФК		0,36 ± 0,02*	79,6 ± 10,9*	1331,1 ± 70,8	42,5 ± 2,7*
Контроль	48 ч	0,13 ± 0,04	188,3 ± 11,8	1274,9 ± 141,2	27,7 ± 2,4
ФК		0,21 ± 0,03	151,3 ± 4,2*	1494,5 ± 194,1	33,7 ± 3,9
Контроль	7 сут	0,41 ± 0,06	122,6 ± 3,9	1297,9 ± 76,6	35,8 ± 1,0
ФК		0,40 ± 0,04	153,1 ± 9,7*	1096,7 ± 81,0	32,3 ± 1,6
Контроль	14 сут	0,39 ± 0,03	164,0 ± 12,2	1702,8 ± 66,9	35,6 ± 1,1
ФК		0,34 ± 0,07	197,6 ± 8,2*	1504,8 ± 59,7	31,6 ± 1,3*

Таблица составлена авторами на основании собственных данных

Примечание: данные представлены в формате среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$); * доверительная вероятность различий относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

Таблица 6. Схема для формирования экспериментальной модели судорожного синдрома обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы

Тип животных	Белые беспородные крысы-самцы возрастом 3 месяца, весом 150–250 г
Количество животных в группе	Не менее 6
Модельный токсикант	Фениловый эфир карбаминовой кислоты [13]
Минимальная судорожная доза	1 мг/кг (в качестве растворителя — 0,9% раствор натрия хлорида)
Способ введения токсиканта в организм	Внутрибрюшинно
Значимые характеристики судорожного синдрома	Клонические судороги в 100% случаев; латентный период проявления судорог 5–6 мин; интенсивность судорог не менее 5 баллов по шкале Racine в течение 30 мин
При изучении эффективности средств терапии судорожного синдрома (до 24 ч) дополнительно могут учитываться показатели	Повышенные уровни: триглицеридов, восстановленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы. Сниженные концентрации: холестерина, щелочной фосфатазы, мочевины, Na^+ , Mg^{2+} , малонового диальдегида; Снижение частоты сердечных сокращений
При изучении эффективности средств терапии отдаленных последствий судорожного синдрома (до 14 сут) дополнительно могут учитываться показатели	Повышение: щелочной фосфатазы, мочевины, билирубина, малонового диальдегида. Снижение: холестерина, лактатдегидрогеназы, АЛТ, глутатионпероксидазы

Таблица составлена авторами на основании собственных данных

24 ч после воздействия, введение карбаматов приводило к возникновению нарушений в структуре мозга, что также может быть использовано при изучении патогенеза отравлений и в практике доклинических исследований при разработке подходов к лечению отравлений.

Некоторая часть выявленных изменений биохимических показателей может быть связана не только с комплексом патогенетических преобразований при интоксикации, но и с индивидуальной чувствительностью отдельных особей, что (при малом количестве животных в группах) повлияло на среднестатистические значения показателей. Однако результаты нашего исследования подтверждаются научными данными, полученными при оценке влияния на человека иных ингибиторов холинэстераз. Так, в исследовании R. Senarathne et al. предлагалось использовать АСТ и АЛТ в качестве альтернативных маркеров отравлений карбаматами и ФОС [24]. Выявленные изменения активности ферментов печени, холестерина и триглицеридов через 14 сут после воздействия фенилкарбамата свидетельствуют о нарушении функций печени. Повышение концентрации мочевины в крови может быть связано как с нарушениями функции печени, так и с повреждением мышечных тканей, кроме того, в процессе массивного распада белка, сопровождающегося гипераммониемией, токсичный аммиак может стать причиной развития ряда неврологических нарушений.

При воздействии фенилкарбамата, помимо дефицита магния, изменялась частота сердечных сокращений. Можно предположить, что данные изменения вносят свой вклад в не зависящую от взаимодействия с АХЭ судорожную активность, учитывая, что гипомagneмия часто ассоциирована с гипервозбудимостью миокарда, тремором, фасцикуляциями.

Результаты изучения содержания и функции АХЭ при введении фенилкарбамата вполне ожидаемы и подтверждают эффективность использования данного соединения в качестве модельного токсиканта при экспериментальном моделировании судорожного синдрома на фоне отравления ингибиторами холинэстераз.

Результаты исследования маркеров перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты подтвердили данные о комплексном механизме развития судорог и последующих неврологических нарушений после отравлений карбаматами. Выявленное ранее изменение уровня малонового диальдегида, образующегося в процессе перекисного окисления липидов и ассоциируемого с изменениями липидограммы [25], соотносится с установленными нами изменениями в концентрациях триглицеридов и холестерина. Были зафиксированы отличия уровня МДА на 1 сут в группе «фенилкарбамат» по сравнению с контрольной группой, но начиная со второго дня и до 14 дня наблюдалось увеличение данного показателя по сравнению с контрольной группой. Повышение уровня содержания ГП и ВГ на 1 и 2 сут экспериментального периода в группе животных, получивших фенилкарбамат, по сравнению с контрольной группой подтверждает нарушение функции печени, сердечно-сосудистой системы и развитие воспалительной реакции на фоне отравления карбаматами, сопровождающегося активацией антиоксидантных механизмов.

Обобщая результаты проведенной разработки экспериментальной модели судорожного синдрома на основе введения фенилкарбамата в организм, можно предложить следующий алгоритм использования модели, представленный в таблице 6.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная экспериментальная модель судорожного синдрома на основе фенилкарбамата в дозе 1 мг/кг м.т. обладает приемлемыми характеристиками по сравнению с существующими моделями и может эффективно применяться в доклинических исследованиях при изучении особенностей патогенеза отравлений карбаматами, при разработке средств купирования судорожного синдрома при остром отравлении и при создании средств профилактики и лечения отдаленных последствий отравлений у выживших.

Литература / References

1. Ghosh AK, Brindisi M. Urea derivatives in modern drug discovery and medicinal chemistry. *J. Med. Chem.* 2020;63:2751–88. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01541>
2. Matosevic A, Bosak A. Carbamate Group as Structural Motif in Drugs: a review of carbamate derivatives used as therapeutic agents. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju.* 2020;71(4):285–99. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3466>
3. King AM, Aaron CK. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emerg Med Clin North Am.* 2015;33(1):133–51. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2014.09.010>
4. Mangaly AJ, Radhakrishnan C. Alternate Biochemical Markers in Organophosphate Poisoning. *J Assoc Physicians India.* 2023;71(8):11–2. <https://doi.org/10.59556/japi.71.0325>
5. Morgan JE, Wilson SC, Travis BJ, Bagri KH, Pagarigan KT, Bel-ski HM, et al. Refractory and Super-Refractory Status Epilepticus in Nerve Agent-Poisoned Rats Following Application of Standard Clinical Treatment Guidelines. *Front Neurosci.* 2021;15:732213. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.732213>
6. Alozi M, Rawas-Qalaji M Treating organophosphates poisoning: management challenges and potential solutions. *Crit Rev Toxicol.* 2020;50(9):764–79. <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1837069>
7. Leung MCK, Meyer JN. Mitochondria as a target of organophosphate and carbamate pesticides: Revisiting common mechanisms of action with new approach methodologies. *Reprod Toxicol.* 2019;89:83–92. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.07.007>
8. Mudyanselage AW, Wijamunige BC, Kocon A, Carter WG. Differentiated Neurons Are More Vulnerable to Organophosphate and Carbamate Neurotoxicity than Undifferentiated Neurons Due to the Induction of Redox Stress and Accumulate Oxidatively-Damaged Proteins. *Brain Sci.* 2023;13(5):728. <https://doi.org/10.3390/brainsci1305072>
9. Löscher W. Animal Models of Seizures and Epilepsy: Past, Present, and Future Role for the Discovery of Antiseizure Drugs. *Neurochem Res.* 2017;42(7):1873–88. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2222-z>
10. McCarren HS, McDonough JH Jr. Anticonvulsant discovery through animal models of status epilepticus induced by organophosphorus nerve agents and pesticides. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1374(1):144–50. <https://doi.org/10.1111/nyas.13092>
11. СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней.
12. Обоснование и разработка порядка применения наиболее эффективных препаратов, предлагаемых в качестве средств фармакологической коррекции последствий отравлений веществами судорожного действия. Отчет о НИР (заключительный). ФГБУН ИТ ФМБА России, рук. Петров А.Н., исполн.: Войцехович К.О. и др.СПб.; 2017 г. № 115021340031. Обоснование и разработка порядка применения наиболее эффективных препаратов, предлагаемых в качестве средств фармакологической коррекции последствий отравлений веществами судорожного действия. Отчет о НИР (заключительный). ФГБУН ИТ ФМБА России, рук. Петров А.Н., исполн.: Войцехович К.О. и др.СПб.; 2017 г. № 115021340031.
13. Беспалов АЯ, Прокопенко ЛИ, Горчакова ТЛ, Козлов ВК, Петров АН, Зайцева МА и др. Гидрохлориды замещенных 2-[(диметиламино)метил] арилдиметилкарбоматов, обладающие антихолинэстеразной активностью. Патент Российской Федерации № 2754133; 2021. Беспалов АЯ, Прокопенко ЛИ, Горчакова ТЛ, Козлов ВК, Петров АН, Зайцева МА, et al. Hydrochlorides of substituted 2-[(dimethylamino)methyl] arylidimethyl carbomates with anticholinesterase activity. Patent of the Russian Federation. No. 2754133; 2021 (In Russ.).
14. Миронов АН. ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. Mironov AN, ed. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Moscow: Grif i K; 2012 (In Russ.).
15. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972;32(3):281–94. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
16. Hall CS Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J. comp. physiol. Psychol.* 1936;22:345–52. <https://doi.org/10.1037/h0059253>
17. Струтынский АВ. Электрокардиограмма. Анализ и интерпретация. М.: МЕДпресс-информ; 2013. Strutynskij AV. Electrocardiogram. Analysis and interpretation. Moscow: MEDpress- inform; 2013 (In Russ.).
18. Батоцыренова ЕГ, Кашуро ВА, Шарабанов АВ. Фармакологическая коррекция отдаленных последствий острого тяжелого отравления тиопенталом натрия в условиях хронического светового десинхроноза. *Биомедицина.* 2021;17(3):23–8. Batotsyrenova EG, Kashuro VA, Sharabanov AV. Pharmacological correction of longterm effects of acute severe poisoning with sodium thiopental under chronic light desynchronization. *Journal Biomed.* 2021;17(3):23–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-23-28>
19. Habig WH. Assay for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology.* 1981;77:398–405. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(81\)77053-8](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(81)77053-8)
20. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 1959;82(1):70–7. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
21. Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry.* 1978;86(1):271–8. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
22. Ellmann GL, Courtney KD, Andress V, Fcatherstone RM. A new and rapid Colorimetric determination of activity acetylcholines-terase. *Biochem.Pharmacol.* 1961;7(2):88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
23. Yadav I. Study of Sick Euthyroid Syndrome in Organophosphate Poisoning. *J Assoc Physicians India.* 2022; 70(4):11–2.
24. Senarathne R, Hettiaratchi U, Athiththan L, Peiris H, Sarathchandra C, Senanayake H, Weerawansa P, Siribaddana S. Selected Liver Markers in Predicting the Severity of Organophosphate and Carbamate Poisoning. *J Environ Public Health.* 2022;7826396. <https://doi.org/10.1155/2022/7826396>
25. Булатова ИА, Щекотова АП, Карлышева КН. Особенности окислительного стресса при метаболическом синдроме с жировым поражением печени. *Современные проблемы науки и образования.* 2014;2. URL: <https://science-education.ru/article/view?id=12473> (дата обращения: 26.04.2024). Bulatova IA, SHCHyokotova AP, Karlysheva KN. Features of oxidative stress in metabolic syndrome with fatty liver disease. *Modern problems of science and education.* 2014;2. URL: <https://science-education.ru/article/view?id=12473> (In Russ.).

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.С. Мелехова — разработка и тестирование экспериментальной модели, написание разделов статьи; А.В. Бельская — разработка и тестирование экспериментальной модели, написание разделов статьи; В.Н. Зорина — анализ научной литературы, трактовка результатов биохимического анализа, написание статьи; М.В. Мельникова — тестирование экспериментальной модели; Л.Г. Кубарская — определение ацетилхолинэстеразы; О.Н. Гайкова — гистологическое исследование.

ОБ АВТОРАХ

Мелехова Александра Сергеевна

<https://orcid.org/0000-0003-1803-3815>
melehovaalexandra@gmail.com

Бельская Алиса Владимировна

<https://orcid.org/0000-0002-9343-4144>
belskayaalisa@gmail.com

Зорина Вероника Николаевна, д-р биол. наук

<https://orcid.org/0000-0001-9183-7663>
nilimmun@yandex.ru

Мельникова Маргарита Викторовна

<https://orcid.org/0000-0002-2996-5151>
margarita10108@mail.ru

Кубарская Лариса Георгиевна, канд. биол. наук

<https://orcid.org/0000-0001-7622-0390>
larkub@yandex.ru

Гайкова Ольга Николаевна, д-р биол. наук

<https://orcid.org/0000-0002-9942-2742>
olga-gaykova@yandex.ru