

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ КРЫС В
УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА,
ВЫЗВАННОГО ОБРАТИМЫМ ИНГИБИТОРОМ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ
(ФЕНИЛКАРБАМАТОМ). ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Мелехова А.С., Гайкова О.Н., Козлов А.А., Бажанова Е.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», 192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

Тел./факс: +7 (812) 365-06-80

E-mail: institute@toxicology.ru

Резюме. Проблема острых отравлений веществами нейротропного действия, стимулирующими ЦНС и индуцирующими двигательные расстройства в виде гиперкинезов и судорог актуальна в силу комплекса обстоятельств. Среди них следует отметить достаточно широкую распространённость патологических состояний, сопровождающихся судорогами; большое количество химических веществ, способных вызывать судороги, включая лекарственные препараты, пестициды, аварийные химически опасные вещества (АХОВ), отравляющие вещества и др. Несмотря на значительное количество антидотов (атропин, пиридоксин, налоксон) и средств купирования судорожного синдрома в клинической практике (бензодиазепины, барбитураты, вальпроаты), существует потребность разработки новых средств для купирования судорог. **Целью** исследования была оценка судорожного синдрома, а также патоморфологическое и морфометрическое исследование головного мозга белых беспородных крыс самцов, подвергшихся действию фенилкарбамата, и оценка эффективности фармакотерапии карамифеном, дифферидином и амимозифром вальпроевой кислоты. **Материалы и методы.** Изучение эффективности фармакотерапии осуществлялось на модели отравления обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы – фенилкарбаматом. У животных оценивались выраженность и продолжительность судорог, а также количество неизменённых нейронов, набухших нейронов, тёмных и тёмных сморщенных нейронов, клеток-теней в гиппокампе, 2-3 и 4-5 слоях коры. **Результаты.** Выявлено достоверное снижение выраженности судорожной активности и купирование судорог во всех группах с выбранными лекарственными средствами по сравнению с контрольной группой без лечения. **Заключение.** Наиболее выраженную противосудорожную активность показало лекарственное средство карамифен, обладающий мультитаргетными свойствами.

Ключевые слова: отравление, головной мозг, нейроны, карбамат, токсикология.

**EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF PHARMACOTHERAPY IN RATS UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CONVERSION SYNDROME CAUSED BY A REVERSIBLE ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITOR (PHENYL CARBAMATE).
PATHOMORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC STUDY OF THE BRAIN**

Melehova A.S., Gaikova O.N., Kozlov A.A., Bazhanova E.D.

The Federal State-Financed Institution Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the Federal Medical Biological Agency

192019, Russian Federation, St. Petersburg, Bekhtereva str., 1

Tel./Fax: +7 (812) 365-06-80

E-mail: institute@toxicology.ru

Resume. The problem of acute poisoning with substances of neurotropic action that stimulate the central nervous system and induce motor disorders in the form of hyperkinesia and seizures is relevant due to a set of circumstances. Among them, it should be noted that there is a fairly wide prevalence of pathological conditions accompanied by seizures; a large number of chemicals capable of causing seizures, including medicines, pesticides, emergency chemically hazardous substances (AHS), toxic substances, etc. Despite the significant number of antidotes (atropine, pyridoxine, naloxone) and drugs for the relief of convulsive syndrome in clinical practice (benzodiazepines, barbiturates, valproates), there is a need to develop new drugs for the relief of seizures. **The aim** of the study was to evaluate the convulsive syndrome, as well as a pathomorphological and morphometric study of the brain of white outbred male rats exposed to phenylcarbamate and to evaluate the effectiveness of pharmacotherapy with caramiphen, differidine and valproic acid amimoester. **Materials and methods.** The effectiveness of pharmacotherapy was studied using a model of poisoning with a reversible acetylcholinesterase inhibitor, phenylcarbamate. In animals, the severity and duration of seizures were assessed, as well as the number of unchanged neurons, swollen neurons, dark and dark wrinkled neurons, shadow cells in the hippocampus, 2-3 and 4-5 layers of the cortex. **Results.** A significant decrease in the severity of convulsive activity and seizure relief was revealed in all groups with selected drugs compared with the control group without treatment. **Conclusion.** The most pronounced anticonvulsant activity was shown by the drug caramiphen, which has multitarget properties.

Keywords: poisoning, brain, neurons, carbamates, toxicology.

Введение

Судороги экзотоксического генеза характеризуются отсутствием чёткой периодичности, различными промежутками времени между приступами судорог и неодинаковой продолжительностью и асинхронностью самих пароксизмов [1].

Следует учитывать, что в некоторых случаях при действии конвульсивных ядов возможно развитие эпилептиформного состояния (ЭС) в виде длительных или многократных судорожных приступов без светлых промежутков. ЭС представляет непосредственную угрозу жизни больного и нередко может закончиться смертью пациента. По данным Thundiyil J.G. и соавторов [2] в случае развития ЭС при лекарственных отравлениях смертельный исход наблюдался у 50% больных. Известно, что продолжительный судорожный синдром или повторное развитие конвульсий способны привести к необратимому повреждению нейронов, а также к другим опасным для жизни осложнениям, таким как гипоксия, гипотония, аспирация, гипертермия, рабдомиолиз и метаболический ацидоз [3].

Исследования с использованием моделей животных, а также обследование пациентов с применением методов нейровизуализации показывают, что однократные или повторные короткие судорожные припадки при определенных обстоятельствах вызывают гибель нейронов, но также указывают на то, что потеря нейронов не является неизбежным следствием судорожного синдрома. Недавние исследования на людях показывают, что мишенью для терапевтического воздействия может являться предотвращение апоптоза [4, 5].

По данным Mc Donough и соавт. Myhrer и соавт. [6, 7] развитие судорожного синдрома при отравлениях фосфорорганическими соединениями проходит в три стадии. Первые 5 минут после введения токсического агента развитие судорог обусловлено холинергической стимуляцией. Через 5 минут проявляется увеличение глутаматергической активности и активация NMDA-рецепторов. Судорожная активность, продолжающаяся в течение 40 минут после введения токсиканта, обусловлена нехолинергическими механизмами и приводит к структурным нейрональным повреждениям. В силу этих обстоятельств в настоящее время интенсивно исследуется возможность применения, так называемых, антидотов «отсроченного» действия при отравлениях антихолинэстеразными веществами. В качестве антидотов «отсроченного» действия предлагается использовать мультитаргетные препараты, проявляющие М-холиноблокирующее и глутамат-блокирующее (NMDA-блокирующее) действие. Установлено, что препарат подобного мультитаргетного действия карамифен проявлял противосудорожный и нейропротективный эффект через 1 час после введения крысам зомана в дозе 1,4 ЛД₅₀ [8].

Использование противосудорожных препаратов антидотного и симптоматического действия с целью купирования затянувшихся или повторных генерализованных судорожных пароксизмов в комплексе с другими мероприятиями неотложной терапии направлено, прежде всего, на устранение угрозы жизни пострадавших. Наряду с этим, имеются убедительные данные, что степень контроля судорожных состояний имеет критическое значение для предупреждения развития последующих нейродегенеративных повреждений головного мозга в соматогенной стадии отравлений конвульсантами [9, 10].

К веществам судорожного действия, которые требуют оказания медицинской помощи пострадавшим в чрезвычайных ситуациях химической природы и при массовых бытовых отравлениях, следует отнести препараты антихолинэстеразного действия – фосфорорганические соединения (ФОС) и карбаматы [11].

Карбаматы – производные (сложные эфиры и соли) карбаминовой кислоты. Известны сотни химических веществ из класса карбаматов синтетического и растительного происхождения, используемых в качестве лекарственных средств (прозерин, калимин, убретид) и пестицидов (альдикарб, карбарил, пропоксур). По механизму действия карбаматы являются обратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АЦХЭ). В основе ингибиции АЦХЭ лежит карбамилирование её активного центра. Однако, вследствие спонтанного декарбамилирования фермента, активность АЦХЭ восстанавливается, как правило, в пределах 4-6 часов [12]. Токсическое действие карбаматов может проявляться в результате: передозировки лекарственных средств на их основе, нарушений требований безопасности при контакте с высокотоксичными пестицидами – карбатами; аварий при их производстве, хранении и транспортировке [13].

Установлено, что основным проявлением тяжёлой формы отравления карбатами является судорожный синдром [12].

Целью исследования является патоморфологическое и морфометрическое исследование головного мозга крыс и оценка эффективности фармакотерапии (карамифен, аминоэфира вальпроевой кислоты, диферидина) судорожного синдрома при моделировании тяжёлого отравления производным карбаминовой кислоты – 2-[(диметиламино)метил]арилдиметилкарбата (далее по тексту – ФК).

Материалы и методы

В работе были использованы 40 белых беспородных крыс-самцов возрастом 3 месяца, весом 150-250 г, поступившие из питомника НИЦ «Курчатовский институт» – ПЛЖ «Рапполово», Ленинградская область. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными санитарным врачом РФ от 29.08.2014 г. № 51 в поликарбонатных клетках группами по 10 особей одного пола, на гипоаллергенном подстиле

«Золотой кот», корм «Комбикорм ЛБК-120», приготовленный ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», вода ГОСТу "Вода питьевая" Р 51232-98 и СанПиН 2.1.4.1074-01. Содержание животных осуществлялось в контролируемых условиях окружающей среды ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности воздуха 30-70%), с 12-ти часовым циклом освещения. Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Для моделирования судорожного синдрома использовали подобранную нами дозу 1 мг/кг ФК при внутрибрюшинном введении, вызывающую в исследуемой группе судорожный синдром у большинства крыс (90,0%) с минимальным количеством гибели животных (далее – судорожная доза). Латентный период наступления судорог составляет 5-7 мин, а средняя продолжительность судорожного синдрома 60-90 минут.

Скрининговыми показателями эффективности исследуемых средств фармакологической терапии выступали выраженность и продолжительность судорожного синдрома, вызванного ФК, а также результаты гистологического исследования головного мозга.

Выраженность судорожного синдрома у животных оценивали визуально по модернизированной нами шкале Racine [14], разделяя его на 6 уровней: уровень 0 – отсутствие изменений в поведении животных; уровень 1 – снижение двигательной активности животных; уровень 2 – наличие движения ртом/головой, жевание, кивание головой; уровень 3 – унилатеральный/билатеральный клонус передних лап без роющих движений, симптом Штрауба, вытягивание тела; уровень 4 – клонус обеих передних конечностей с роющими движениями; уровень 5 – вытягивание тела и лежащее положение; уровень 6 – полноценные тонические судороги.

Продолжительность судорожного синдрома определяли, как промежуток времени в минутах от момента появления признаков 4 уровня и выше по модернизированной шкале Racine до полного исчезновения судорог (0 уровень).

Для изучения противосудорожной активности исследуемые фармакологические препараты вводились внутрибрюшинно, однократно через 1-2 мин после развития судорожного синдрома 4 уровня.

Экспериментальные лекарственные средства для фармакологической терапии синтезированы в лаборатории синтеза ФГБУ НКЦТ им. С.Н.Голикова ФМБА России:

– Карамифен [2-(диэтиламино)этил-1-фенил циклопентан-1-карбоксилата гидрохлорид]. Обладает комплексными (мультитаргетными) М-холиноблокирующими и NMDA – блокирующими эффектами [8].

– Диферидин [хлоргидрат-1-1-дифенил-4-пиперидино-бутин-2-ола-1] – блокатор центральных М- и Н-холинорецепторов и периферических М-холинорецепторов [15].

– Аминоэфир вальпроевой кислоты, содержащий третичную аминогруппу (АВК №3) [17, 18].

Исследуемые группы распределялись следующим образом (по 8 крыс-самцов в группе): контроль (интактные животные), отрицательный контроль (модельное вещество) – ФК в дозе 1 мг/кг, ФК+Карамифен в дозе 50 мг/кг, ФК+Диферидин в дозе 2мг/кг, ФК+ АВК №3 в дозе 43 мг/кг;

Доза АВК №3 – 43 мг/кг установлена, исходя из межвидового пересчета эффективной лечебной дозы препарата Депакин с человека на крысу [17]. Доза диферидина (2 мг/кг) была определена на основании фармакологических исследований, в соответствии с которыми в этой дозе он проявлял выраженное центральное М-холиноблокирующее действие [16]. Карамифен в использованной дозе (50 мг/кг), проявлял выраженный противосудорожный эффект при отравлениях ингибиторами ацетилхолинэстеразы – ФОС [8].

Для морфометрической оценки головного мозга крыс из контрольной и каждой опытной группы мы использовали мозг 4-х белых крыс-самцов. Забор образцов тканей головного мозга для гистологического исследования был проведен через 24 часа, 7 и 14 дней после введения ФК и возникшего после введения судорожного синдрома, либо введения исследуемых веществ. После декапитации крыс головной мозг извлекали и фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Объекты заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ниссля и Шпильмейера.

Изображения для исследования были получены с помощью фотокамеры Nikon DS-Fi1c люминесцентного микроскопа Nikon Eclipse 80i при увеличении объектива x200 (объектив Plan Fluor 20x/0.50 DIC N2 ∞ /0.17 WD 2.1 и окуляр x10) с выдержкой 1/150 секунды. Для удобства подсчёта клеток снимки были сделаны в более высоком разрешении 2560x1920 пикселей.

Для каждого животного в гиппокампе, 2-3 и 4-5 слоях коры оценивалось количество неизменённых нейронов, набухших нейронов, тёмных и тёмных сморщенных нейронов, а также клеток-теней в 20 полях зрения.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программ Statistica 13.0 (Statsoft, США), PAST, GraphPad Prism 8.0.1. Для сравнения нескольких независимых выборок, представленных количественными переменными, применяли непараметрический ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (Kruskal-Wallis ANOVA), так как распределение не являлось нормальным. Численность крыс в каждой из исследуемых групп составила 8 особей и по 4 для гистологического анализа.

Помимо медианы (Me), являющейся мерой центральной тенденции для ассиметрично распределённых данных приводили минимальное (Min) и максимальное (Max) значения, либо квартили (LQ, UQ), а также численность выборки (N). В случае установления

статистически значимых различий между всеми группами, для выявления различий между отдельными группами использовали апостериорный метод «Сравнение средних рангов для всех групп» (непараметрический Dunn test), учитывающий проблему множественных сравнений.

Результаты и обсуждение

Результаты изучения влияния фармакологических средств на степень выраженности судорог, вызванных ФК, представлены на рисунке 1.

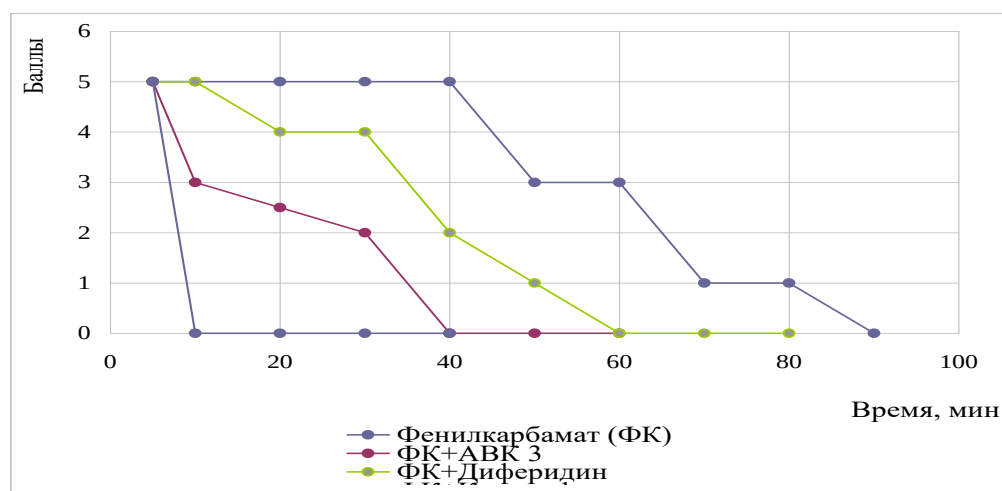


Рисунок 1. Влияние экспериментальных лекарственных средств на степень выраженности судорог, вызванных ФК

Результаты изучения влияния фармакологических средств на продолжительность судорог у крыс, вызванных ФК, представлены в таблицах 1–2.

Было установлено, что в наибольшей степени противосудорожный эффект проявился при лечении крыс карамифеном в дозе 50 мг/кг и АВК № 3 в дозе 43 мг/кг. Под влиянием карамифена интенсивность судорог резко снижалась сразу после его введения и через 10 мин исчезала. Использование в качестве противосудорожного агента АВК № 3 привело к исчезновению судорог 4 уровня и выше через 20 мин, а под влиянием диферидина в дозе 2 мг/кг продолжительность судорог этой степени выраженности сокращалась до 30 мин. Средняя продолжительность судорог 4 – 6 уровня у крыс, не получавших лечение, составляла 70 мин.

Таблица 1

Сравнительная оценка продолжительности судорожного синдрома, у самцов крыс после внутрибрюшинного введения исследуемых лекарственных средств

Группа	Доза мг/кг	Значения переменной				р-значение межгрупповых различий ¹
		N	Me	Min	Max	
Фенилкарбамат (ФК)	1,0	38	69.0	45.0	101.0	0,003*
ФК+Карамифен	1,0+50,0	11	5.0	2.0	6.0	
ФК+АВК №3	1,0+43,0	15	25.0	12.0	37.0	
ФК+Диферидин	1,0+2,0	11	56.0	30.0	73.0	
Примечания: 1 – ¹ – р-значение в Kruskel-Wallis ANOVA; 2 – * – различия между всеми группами статистически значимы (p<0.05)						

Таблица 2

Квадратичная матрица апостериорных сравнений (p-значения) продолжительности судорожного синдрома после внутрибрюшинного введения исследуемых лекарственных средств с использованием Dunn test

Группа	ФК	ФК+ Карамифен	ФК+ АВК № 3	ФК+ Диферидин
ФК		0,000*	0,000*	0,928
ФК+Карамифен	0,000*		1,000	0,000*
ФК+АВК №3	0,000*	1,000		0,013*
ФК+Диферидин	0,928	0,000*	0,013*	
Примечание –* – различия для группы в строке статистически значимы по сравнению с группой, представленной в соответствующем столбце ($p \leq 0,05$)				

Гиппокамп является областью мозга, чувствительной к неблагоприятным воздействиям, таким как окислительный стресс [19]. Поэтому была проведена количественная оценка неизменённых и необратимо изменённых (клетки-тени) нейронов.

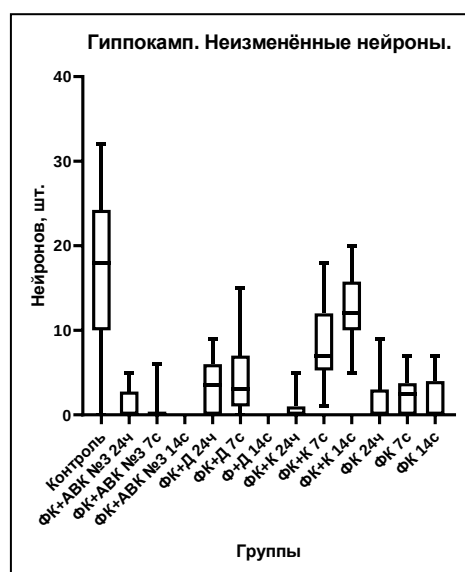


Рисунок 2. Неизменённые нейроны в гиппокампе

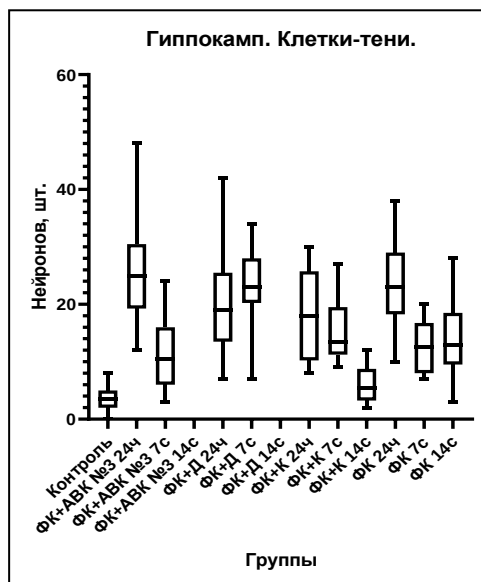


Рисунок 3. Клетки-тени в гиппокампе

Наибольший нейропротективный эффект был получен при использовании лекарственного средства карамифен, где количество клеток-теней в гиппокампе было минимальным при максимальном количестве неизменённых нейронов, которое нарастало к седьмым суткам.

На рисунках 4-6 показано состояние нейронов в гиппокампе у животных контрольной (интактной) группы, а также в группе без лечения, получавших ФК и с коррекцией карамифеном на 14-е сутки, когда изменения стали наиболее выраженными.

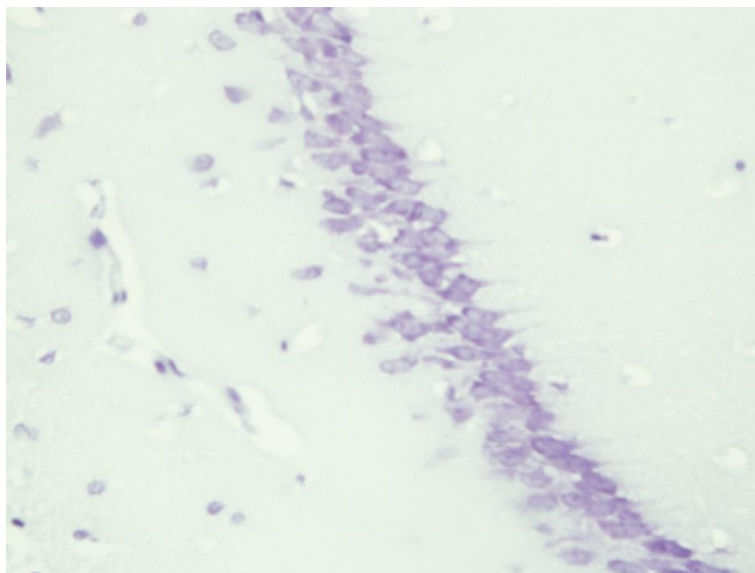


Рисунок 4. В контрольной группе в гиппокампе отмечаются лишь единичные тёмные клетки.

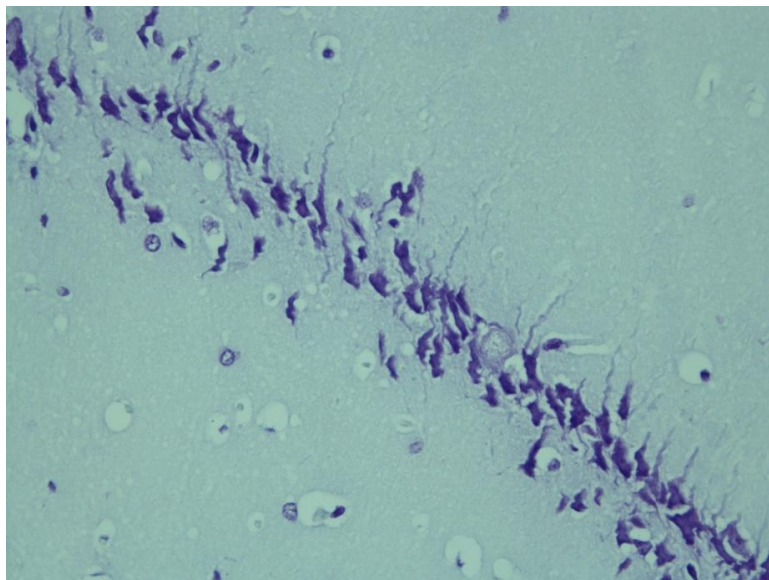


Рисунок 5. Большинство нейронов в гиппокампе животных, получивших ФК на 14-е сутки были тёмными, сморщенными, присутствуют клетки-тени.

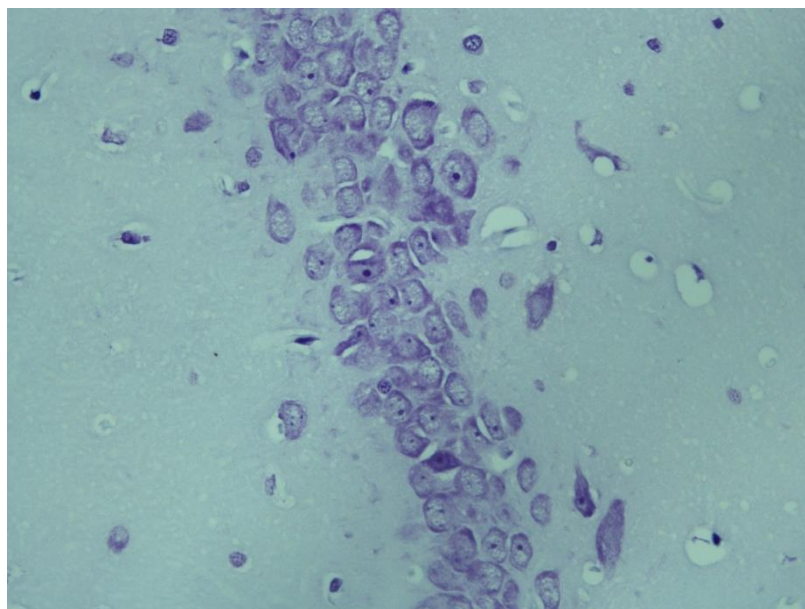


Рисунок 6. В гиппокампе животных, получивших карамифен, отмечается возвращение в нормальное состояние части нейронов, но присутствуют набухшие, тёмные и тёмные сморщенные нейроны, а также клетки-тени.

Таким образом, в наибольшей степени противосудорожный эффект проявился при лечении крыс карамифеном в дозе 50 мг/кг, что подтверждается купированием судорожного синдрома в пределах 10 минут по сравнению 70 минутами у группы, не получавшей лечение. Это подтверждено данными морфологических и морфометрических исследований.

Во всех группах, подвергшихся действию ФК наблюдались изменения нейронов в гиппокампе, свидетельствующие о нейродегенеративных процессах. Наблюдались

изменения нейронов, как обратимые – острое набухание, так и необратимые – сморщивание и образование клеток-теней, а также нейрофагия. Неропиль в некоторых пучках значительно разрежен, а в стволе в некоторых продольно проходящих пучках определяется отек аксоплазмы.

При введении карамифена в дозе 50 мг/кг были менее выражены необратимые изменения нейронов, а также отмечалось возвращение в нормальное состояние клеток, подвергшихся обратимым изменениям. На 7-е и 14-е сутки наблюдалось увеличение числа неизменённых нейронов до 7 (5,25-12) и 12 (10-15,75) соответственно, хотя оно и не достигло значений контрольной группы 18 (10-24,25). На 14-е сутки наблюдалось также наименьшее число клеток-теней 5,5 (3,25-8,75) по сравнению с группой, получавшей токсикант без лечения 13 (9,5-18,5).

Выводы

Судорожная активность и состояние нейронов гиппокампа крыс, подвергшихся действию обратимого ингибитора ацетилхолинэстеразы – фенилкарбамата показали, что наилучшим лекарственным средством из рассмотренных соединений является карамифен, обладающий свойствами М-холиноблокатора и NMDA-блокатора.

При его введении наблюдалось самое быстрое снижение выраженности и купирования судорожного синдрома, а в гиппокампе — минимальные изменения нейронов и возвращение большинства из них в нормальное состояние к 14-м суткам. Таким образом, можно заключить, что мультитаргетные препараты проявляют высокую противосудорожную активность при отравлениях обратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы – карбаматами.

Список литературы

1. Бонитенко Ю.Ю., Никифоров А.М. *Чрезвычайные ситуации химической природы: (химические аварии, массовые отравления; медицинские аспекты)*. СПб: Гиппократ; 2004.
2. Thundiyil J.G., Kearney T.E., Olson K.R. *Evolving epidemiology of drug-induced seizures reported to a Poison Control Center System. J. Med. Toxicol.* 2007; 3(1): 15–19.
3. Chen H.Y., Albertson T.E., Olson K.R. *Treatment of drug-induced seizures. Br. J. Clin. Pharmacol.* 2016; 81(3): 412–419.
4. Figueiredo T.H., Qashu F., Apland J.P., Aroniadou-Anderjaska V., et al. *The GluK1 (GluR5) Kainate/{alpha}-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor antagonist LY293558 reduces soman-induced seizures and neuropathology. J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 336(2): 303–312.
5. Noebels J.L., Avoli M., Rogawski M.A., Olsen R.W., et al. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies, 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).* 2012. – The NCBI Bookshelf online book version.
6. McDonough J.H.Jr., Shih T.M. *Neuropharmacological mechanisms of nerve agent-induced seizure and neuropathology. Neurosci. Biobehav. Rev.* 1997; 21(5): 559–579.
7. Myhrer T., Enger S., Aas P. *Pharmacological therapies against soman-induced seizures in rats 30 min following onset and anticonvulsant impact. Eur. J. Pharmacol.* 2006; 548(1-3): 83–89.
8. Figueiredo T.H., Aroniadou-Anderjaska V., Qashu F., Apland J.P., et al. *Neuroprotective efficacy of caramiphen against soman and mechanisms of its action. Br. J. Pharmacol.* 2011; 164(5): 1495–1505.
9. Shih T.M., Duniho S.M., McDonough J.H. *Control of nerve agent induced seizures is critical for neuroprotection and survival. Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003; 188: 69–80.
10. de Araujo Furtado M., Lumley L.A., Robison C., Tong L.C., et al. *Spontaneous recurrent seizures after status epilepticus induced by soman in Sprague-Dawley rats. Epilepsia.* 2010; 51: 1503–1510.
11. Гладких В.Д., Сарманаев С.Х., Остапенко Ю.Н. ред. *Антидотная терапия отравлений высокотоксичными веществами в условиях чрезвычайных ситуаций. Руководство.* Федеральное медико-биологическое агентство. М.: Комментарий; 2014.
12. Куценко С.А. *Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита.* СПб.: Фолиант; 2004.
13. Curtis D. Klaassen. *Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons.* New York :McGraw-Hill Education, 2013.

14. Racine R.J. *Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972; 32(3): 94–281.
15. Разумова М.А. *К фармакологии аминоспиртов ацетиленового ряда. Журнал фармакологии и токсикологии.* 1965; 2: 153–158.
16. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al., Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man // *Cancer Chemother Rep.*, 50(4), 219 – 441 (1966)
17. Беспалов А.Я., Прокопенко Л.И., Горчакова Т.Л., Козлов В.К., и др. Гидрохлорид (1-метилпиперидин-4-ил)-2пропилентаноата, обладающий холинолитической и противосудорожной активностью: пат. 2714135 Рос. Федерация: МПК C07D 295/03 (2006.01) A61K 31/445 (2006.01) A61P 25/08 (2006.01) A61P 21/02 (2006.01); ? 2019137931.
18. Мелехова А.С., Беспалов А.Я., Верведа А.Б., Бондаренко А.А., и др. *Многокритериальная оценка фармакологической активности оригинальных соединений вальпроевой кислоты для купирования первично-генерализованных судорог, вызванных камфорой. Медлайн.ру.* 2023; 24: 107–120. Available at: <http://www.medline.ru/public/art/tom24/art9.html>
19. Abd Allah H.N., Abdul-Hamid M., Mahmoud A.M., Abdel-Reheim E.S. Melissa officinalis L. ameliorates oxidative stress and inflammation and upregulates Nrf2/HO-1 signaling in the hippocampus of pilocarpine-induced rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022; 29(2): 2214 – 2226.

References

1. Bonitenko Yu.Yu., Nikiforov A.M. *Chemical emergencies: (chemical accidents, mass poisonings; medical aspects).* SPb: Gippokrat; 2004. (in Russian).
2. Thundiyil J.G., Kearney T.E., Olson K.R. *Evolving epidemiology of drug-induced seizures reported to a Poison Control Center System. J. Med. Toxicol.* 2007; 3(1): 15–19. <https://doi.org/10.1007/BF03161033>.
3. Chen H.Y., Albertson T.E., Olson K.R. *Treatment of drug-induced seizures. Br. J. Clin. Pharmacol.* 2016; 81(3): 412–419. <https://doi.org/10.1111/bcp.12720>.
4. Figueiredo T.H., Qashu F., Apland J.P., Aroniadou-Anderjaska V., et al. *The GluK1 (GluR5) Kainate/{alpha}-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor antagonist LY293558 reduces soman-induced seizures and neuropathology. J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 336(2): 303–312. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.171835>.
5. Noebels J.L., Avoli M., Rogawski M.A., Olsen R.W., et al. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies, 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).* 2012. – The NCBI Bookshelf online book version.

6. McDonough J.H.Jr., Shih T.M. *Neuropharmacological mechanisms of nerve agent-induced seizure and neuropathology*. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1997; 21(5): 559–579. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(96\)00050-4](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(96)00050-4).
7. Myhrer T., Enger S., Aas P. *Pharmacological therapies against soman-induced seizures in rats 30 min following onset and anticonvulsant impact*. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 548(1-3): 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.07.001>.
8. Figueiredo T.H., Aroniadou-Anderjaska V., Qashu F., Aplan J.P., et al. *Neuroprotective efficacy of caramiphen against soman and mechanisms of its action*. *Br. J. Pharmacol.* 2011; 164(5): 1495–1505. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01427.x>.
9. Shih T.M., Duniho S.M., McDonough J.H. *Control of nerve agent induced seizures is critical for neuroprotection and survival*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003; 188: 69–80. [https://doi.org/10.1016/s0041-008x\(03\)00019-x](https://doi.org/10.1016/s0041-008x(03)00019-x).
10. de Araujo Furtado M., Lumley L.A., Robison C., Tong L.C., et al. *Spontaneous recurrent seizures after status epilepticus induced by soman in Sprague-Dawley rats*. *Epilepsia*. 2010; 51: 1503–1510. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02478.x>
11. Gladkikh V.D., Sarmanaev S.Kh., Ostapenko Yu.N. edited by. *Antidote therapy for poisoning with highly toxic substances in emergency situations. Management*. Federal Medical and Biological Agency. M.: Comment; 2014. (in Russian).
12. Kutsenko S.A. *Military toxicology, radiobiology and medical defense*. St. Petersburg: Foliot; 2004. (in Russian).
13. Curtis D. Klaassen. *Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons*. New York :McGraw-Hill Education, 2013.
14. Racine R.J. *Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972; 32(3): 94–281. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0).
15. Razumova M.A. *On the pharmacology of amino alcohols of the acetylene series*. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 1965; 2: 153–158. (in Russian).
16. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al., *Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man*. *Cancer Chemother Rep.*, 50(4), 219 – 441 (1966).
17. Bepalov A.Ya., Prokopenko L.I., Gorchakova T.L., Kozlov V.K., et al. (1-methylpiperidin-4-yl)-2-propylentanoate hydrochloride, which has anticholinergic and anticonvulsant activity: Pat. 2714135 Ross. Federation: IPC C07D 295/03 (2006.01) A61K 31/445 (2006.01) A61P 25/08 (2006.01) A61P 21/02 (2006.01); ? 2019137931. (in Russian).
18. Melekhova A.S., Bepalov A.Ya., Verveda A.B., Bondarenko A.A., et al. *Multicriteria assessment of the pharmacological activity of original valproic acid compounds for*

the relief of primary generalized seizures caused by camphor. Medline.ru. 2023; 24: 107–120. Available at: <http://www.medline.ru/public/art/tom24/art9.html> (in Russian).

19. Abd Allah H.N., Abdul-Hamid M., Mahmoud A.M., Abdel-Reheim E.S. *Melissa officinalis* L. ameliorates oxidative stress and inflammation and upregulates Nrf2/HO-1 signaling in the hippocampus of pilocarpine-induced rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022; 29(2): 2214 – 2226.