

НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ АГОНИСТА АЛЬФА-2 АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ МАФЕДИНА НА МОДЕЛИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС

Ю.И. Сысоев^{1,2,*}, С.Г. Дагаев³, Л.Г. Кубарская³, О.Н. Гайкова³, Б.Ч. Узуебунам¹,
К. Модисе¹, Т.Л. Маквана¹, С.В. Оковитый¹

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России

197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

² Институт трансляционной биомедицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»

199034, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, пом. 1050

³ ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1

Оценена нейропротекторная активность агониста альфа-2 адренорецепторов 6-оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия (мафедина) в дозах 2,5 и 5 мг/кг на модели черепно-мозговой травмы у крыс. Изучено влияние мафедина на поведение и двигательную функцию травмированных животных в тестах «Стимулирование конечностей», «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Цилиндр», «Сужающаяся дорожка» и Staircase. Проведен морфометрический анализ объемов повреждения головного мозга крыс на 7 сутки после ЧМТ на фоне недельного введения изучаемого соединения, а также анализ белкового состава спинномозговой жидкости экспериментальных животных. Оценку эффектов мафедина проводили в сравнении с клонидином и на фоне йохимбина. Введение мафедина крысам в дозе 2,5 мг/кг спустя час после ЧМТ и в течение последующих 6 дней приводило к увеличению их общей двигательной активности, улучшению функции передних и задних конечностей без негативного влияния на поведенческие показатели. Изучаемое соединение не влияло на белковый состав СМЖ травмированных крыс, однако у данных животных наблюдалось уменьшение объема повреждения головного мозга на 7 день после травмы и снижение выраженности воспалительных процессов в области повреждения. В сравнении с клонидином при данном режиме введения мафедина был более эффективным в большинстве тестов. Йохимбин отменял большую часть положительных эффектов изучаемого соединения, что позволяет говорить о том, что в положительном эффекте последнего принимают участие альфа-2 адренорецепторы.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, нейропротекторные средства, агонисты альфа-2 адренорецепторов, мафедина, клонидин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Сысоев Ю.И., Дагаев С.Г., Кубарская Л.Г., Гайкова О.Н., Узуебунам Б.Ч., Модисе К., Маквана Т.Л., Оковитый С.В. Нейропротекторная активность агониста альфа-2 адренорецепторов мафедина на модели черепно-мозговой травмы у крыс. *Биомедицина*. 2019;15(1):62–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-1-62-77>

Поступила 29.08.2018

Принята после доработки 07.11.2019

Опубликована 10.03.2019

STUDY OF THE NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF MAFEDINE, AN ALPHA-2 ADRENERGIC RECEPTOR AGONIST, BY MODELING A TRAUMATIC BRAIN INJURY IN RATS

Yuriy I. Sysoev^{1,2,*}, Sergey G. Dagaev³, Larisa G. Kubarskaja³, Olga N. Gaikova³,
Brayt C. Uzuegbunam¹, Kagiso Modise¹, Terry L. Makwana¹, Sergey V. Okovitiy¹

¹ Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Professora Popova str., 14A

² Institute of Translational Biomedicine of the Saint Petersburg State University
199034, Russian Federation, Saint Petersburg, Universitetskaya embankment, 7/9

³ Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva str., 1

In this study, the neuroprotective activity of alpha-2 adrenergic receptor agonist (6-oxo-1-phenyl-2-(phenylamino)-1,6-dihydropyrimidine-4-sodium olate) (mafedine) at the doses of 2.5 and 5 mg/kg was estimated by modelling a traumatic brain injury in rats. The effect of mafedine on rat behaviour and their motor activity was also assessed following such conventional tests as limb placing, open field, elevated plus maze, cylinder, beam walking and staircase. A morphological analysis of the amount of brain damage in the experimental animals was carried out on the 7th day following injury. In addition, the protein composition of the cerebrospinal fluid was investigated. The effects of mafedine were assessed in a comparative perspective with clonidine. The administration of mafedine at a dose of 2.5 mg/kg to rats after brain trauma is shown to lead to an increase in their overall motor activity and an improvement of fore- and hindlimb motor function without any negative behavioural effects. The studied compound is established to have no effect on the protein composition of the cerebrospinal fluid; however, it decreased the overall size of the damaged area by the 7th day after injury. Moreover, mafedine is shown to decrease the intensity of inflammation processes in the damaged area in rats with traumatic brain injuries. In comparison with clonidine, mafedine demonstrated a higher efficacy in most of the tests. Yohimbine abolished most of the beneficial effects of mafedine; therefore, the positive effects of mafedine are likely to be related to its action on alpha-2 adrenergic receptors.

Keywords: traumatic brain injury, neuroprotective agents, alpha-2 adrenergic agonists, mafedine, clonidine

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

For citation: Sysoev Yu.I., Dagaev S.G., Kubarskaja L.G., Gaikova O.N., Uzuegbunam B.C., Modise K., Makwana T.L., Okovitiy S.V. Study of the Neuroprotective Activity of Mafedine, an Alpha-2 Adrenergic Receptor Agonist, by Modeling a Traumatic Brain Injury in Rats. *Biomedicine*. 2019;15(1):62–77. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-1-62-77>

Submitted 29.08.2019

Revised 07.11.2019

Published 10.03.2019

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из ведущих причин смертности и стойкой утраты нетрудоспособности населения как в РФ, так и за рубежом. Последствиями травматического повреждения мозга являются двигательные нарушения, ухудшение запоминания / потеря памяти, аффективные расстройства, снижение

работоспособности, эпилепсия и др. нарушения [20].

Определенные перспективы в лечении ЧМТ могут быть связаны с использованием агонистов альфа-2 адренорецепторов, которые начиная с 70-х годов прошлого столетия в основном применяли как антигипертензивные средства. Кроме того, у этих препаратов обнаружены

седативные, анальгетические и противотревожные свойства [11]. Позже ряд исследований продемонстрировал, что в условиях эксперимента агонисты альфа-2 адренорецепторов способны снижать выраженность неврологического дефицита, улучшая гистоморфологическую картину головного мозга у животных после инсульта при введении до или во время ишемии [23].

Метаанализ, включающий в себя 9 рандомизированных плацебо-контролируемых исследований с участием 879 пациентов с ишемией головного мозга, показал, что альфа-2 адреномиметик дексмететомидин способен снижать выброс провоспалительных медиаторов и нейроэндокринных гормонов, поддерживать внутричерепной гомеостаз и снижать объем повреждения головного мозга [10].

Целью исследования явилось изучение нейропротекторной активности агониста альфа-2 адренорецепторов мафедина на модели черепно-мозговой травмы у крыс.

Материалы и методы

Эксперименты проводили в соответствии с Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» после одобрения биоэтической комиссии СПХФУ. Крыс содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе, со свободным

доступом к воде. Все опытные и контрольные животные были взяты из одного привоза и прошли карантин в течение 14 суток.

Исследования выполнены на 90 белых беспородных крысах самцах массой 250–300 г, полученных из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.). Во всех экспериментальных группах было по 10 животных.

Черепно-мозговую травму моделировали в соответствии с описанной ранее методикой [5]. У наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг) животных проводили трепанацию черепа в левой лобной части над зоной сенсомоторной коры. Центр трепанационного отверстия находился на 2,5 мм роstralнее и 1,5 мм медиальнее брегмы. Далее по открытой твердой мозговой оболочке наносили дозируемый удар, высверленную пластину возвращали на место, ушивали разрез кожи.

Поведенческие и функциональные тесты у экспериментальных животных проводили на 1-е, 3-и и 7-е сутки. После тестирования на 7-е сутки у крыс осуществляли забор спинномозговой жидкости и мозга для дальнейшего исследования.

На первые сутки после травмы у животных оценивали выраженность неврологического дефицита в тесте «Стимулирование конечностей» (Limb placing test). Тест заключался в ответе задних и передних

Таблица 1. Расписание проводимых экспериментов и процедур
Table 1. Schedule of experiments and procedures

День травмы	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день	7-й день
Утро: ЧМТ ↓ 1 час спустя травмы: введение ЛС	12.00 «Стимулирование конечностей» ↓ Введение ЛС	12.00 Введение ЛС	12.00 «ОП» ↓ «Стимулирование конечностей» ↓ Введение ЛС	12.00 Введение ЛС	12.00 Введение ЛС	12.00 Введение ЛС	12.00 «ПКЛ» ↓ «Цилиндр» ↓ Staircase test ↓ «Сужающаяся дорожка» ↓ Взятие биоматериала

Примечание: «ОП» — открытое поле, «ПКЛ» — приподнятый крестообразный лабиринт.
Note: “ОП” — open field, “ПКЛ” — elevated plus maze.

конечностей на тактильную и проприоцептивную стимуляцию. Процесс тестирования состоял из 7 различных испытаний, результаты выражали в сумме баллов. Для оценки нарушений в работе конечностей использовалась следующая система подсчета: 2 балла — крыса полностью выполняла испытание; 1 балл — крыса выполняла испытание с задержкой в более чем 2 с и/или не полностью; 0 баллов — крыса не отвечала на стимулирование конечности. Максимально возможное суммарное количество баллов было равно 14. Результат выражали в сумме баллов [4].

На третьи сутки повторяли тест «Стимулирование конечностей», дополнительно оценивали общую двигательную (ОДА) и поисково-исследовательскую активность (ПИА) в тесте «Открытое поле» (ОП). ОДА рассчитывали как сумму пересечений квадратов, стоек, заглядываний в норки и грумингов, а ПИА — как сумму стоек и заглядываний. Длительность тестирования составляла 3 мин, результат выражали в сумме баллов.

На 7-е сутки проводили тесты «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) [18], «Стимулирование конечностей», «Цилиндр», «Сужающаяся дорожка» и Staircase test [4].

В тесте ПКЛ у крыс оценивали время нахождения в открытых (ОР) и закрытых рукавах (ЗР), а также ОДА, складывающуюся из количества заходов в темные/светлые рукава, стоек, выглядываний из темных рукавов, свисаний и грумингов.

В тесте «Цилиндр» оценивали асимметрию использования животным передних конечностей в процессе исследования стенок цилиндра. Для тестирования крысу помещали в цилиндр и проводили видеорегистрацию движений животного в течение 8–10 мин. Просмотр видеозаписи проводили в кадрах в режиме, подсчитывая количество независимого использования латеральной и контралатеральной к месту

повреждения конечностей во время исследования стенки цилиндра после подъема на задние лапы, а также одновременное (совместное) использование обеих лап. Данные представляли как процент использования контралатеральной конечности от общего числа поведенческих актов по формуле:

$$\frac{(\text{контр} + 1/2 \times \text{одновр})}{(\text{ипси} + \text{контр} + \text{одновр})} \times 100,$$

где *контр* — контралатеральная к месту повреждения конечность, *одновр* — одновременное использование передних конечностей, *ипси* — ипсилатеральная к месту повреждения конечность [4].

Тест «Сужающаяся дорожка» использовался для оценки сенсомоторной функции передних и задних конечностей [4]. Установка представляет собой две сужающиеся дорожки длиной 165 см, расположенные друг под другом, причем нижняя имеет бортики для расположения конечностей животного во время соскальзывания с верхней доски. В конце установки располагается черная коробка, являющаяся конечной целью перемещения животного. Перед моделированием черепно-мозговой травмы животных в течение 3 дней приучали пересекать «сужающуюся дорожку». Во время тестирования движения крыс записывались на видеокамеру. В кадрах в режиме просмотра видео для каждой конечности отдельно подсчитывали количество постановок конечности на нижнюю доску (ошибок), количество соскальзываний с верхней доски на нижнюю, а также общее количество шагов. Полученные по трем попыткам данные усреднялись, степень выраженности сенсомоторного дефицита рассчитывалась по формуле в процентах:

$$\frac{\text{Ошибки} + 0,5 \times \text{Соскальзывания}}{\text{Общее кол-во шагов}} \times 100$$

Staircase test («Лестничный тест», «тест Монтойа»), предложенный Montoya et al., позволяет оценить навыки использования передних конечностей при поедании семечек (или шариков корма), находящихся

на различных уровнях двух лестниц, расположенных соответственно с левой и с правой стороны относительно животного. Предварительно, за несколько дней до операции, крысы ежедневно приучались к установке в течение 15–20 мин. Данная процедура позволяет снизить стрессогенность замкнутого пространства во время тестирования, тем самым увеличить количество съеденного корма, что позволяет более точно оценить функцию передних конечностей. С этой же целью за день до тестирования животные лишались корма (при оставшемся свободном доступе к воде). Длительность теста составляла 20–30 мин, по окончании с каждой стороны подсчитывали количество съеденных семечек. Данные представляли как процент съеденных семечек с контралатеральной к месту травмы стороны к их общему количеству с обеих сторон [4].

Важным характерным признаком черепно-мозговой травмы является патологическое повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В исследованиях с использованием животных моделей ЧМТ было показано, что у крыс нарушение целостности ГЭБ влечет за собой увеличение содержания в спинномозговой жидкости (СМЖ) альбуминов и других белков с высокой молекулярной массой. Более того, после травмы в СМЖ могут регистрироваться отдельные белки, которые в норме не обнаруживаются, — например, S100-B, GFAP и др. [22]

После проведения всех поведенческих и функциональных тестов на 7-е сутки после травмы животных осуществляли взятие спинномозговой жидкости из *cisterna magna* [16]. Далее ликвор центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 мин, забирали верхний надосадочный слой и замораживали при температуре -40°C для дальнейшего анализа. В образце спинномозговой жидкости определяли белок по методу Lowry [13], после чего

производили его электрофоретическое разделение методом диск-электрофореза [12] в градиенте полиакриламидного геля от 4 до 30%. Полученные форе́зы окрашивали р-ром коллоидного Кумасси G-250 в 15% спиртоуксусной смеси (1:1), отмывку осуществляли 15% спиртоуксусной смесью. Влажный гель сканировали с помощью калиброванного денситометра GS-800 Calibrated Densitometer (Bio-Rad, США). Данные обрабатывали в программе Quantity One 1-D Analysis Software (Bio-Rad, США). Идентификацию масс белка от 10 и более КДа проводили методом средних пропорциональных отрезков на основании молекулярных масс стандартных белков (Bio-Rad, США).

Для определения объема очага повреждения по окончании взятия спинномозговой жидкости у крыс извлекали головной мозг и фиксировали его в течение суток в 10% забуференном формалине. На вибротоме (Campden Instruments Ltd, Великобритания) осуществляли серийные срезы мозга с последующим их окрашиванием раствором крезилвиолета. Объем повреждения (мм^3) определяли с помощью программы анализа изображений ImageJ [8].

Гистологический материал обезжиривали в спиртах возрастающей концентрации, обрабатывали хлороформом и заливали в парафин по стандартной методике [3]. Затем изготавливали гистологические срезы толщиной 5–7 микрон. Все микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином. Просмотр препаратов осуществляли на микроскопе Leica DM 1000 (Leica, Германия), фотосъемку камерой Nikon (Nikon, США). Обработку видеоматериала проводили на персональном компьютере с помощью программы NIS-Elements F 3.2 (Nikon, США).

В качестве объекта исследования было выбрано соединение 6-оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия (мафедин) в дозах 2,5 и 5 мг/кг, обладающее альфа-2 агонистической ак-

тивностью [1]. В качестве референсного средства использовали клонидин в дозе 40 мкг/кг. Выбор доз мафедина был сделан на основании проведенных ранее скрининговых исследований, выбор дозы референсного средства — на основании данных литературы [23]. В эксперименте 1 сравнивали эффективность двух доз мафедина с клонидином. В эксперименте 2 для оценки вклада альфа-2 адренорецепторов в действие мафедина была добавлена группа животных, которым после травмы одновременно с мафедином в эквиволярных количествах вводили антагонист альфа-2 адренорецепторов йохимбин (ООО «Здоровье», Украина). Все фармакологические вещества вводили спустя 1 ч после нанесения травмы и далее каждый день в одно и то же время в течение 6 дней.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы GraphPad Prism 7.00. Осуществляли проверку нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием W-критерия Шапиро — Уилка, оценивали значимость различий при нормальном распределении количественных признаков с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с постхок-тестом по Тьюки, а при ненормальном распределении — с помощью непараметрического критерия Краскела —

Уоллиса с постхок-тестом по Данну. При проведении морфометрического анализа использовали непараметрический критерий Манна — Уитни. Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде среднего арифметического (М) ± ошибка среднего (m). В тесте «Стимулирование конечностей» данные представлены как медиана (нижний квартиль; верхний квартиль).

Результаты исследований

Проведенными исследованиями установлено, что травматическое повреждение зоны сенсомоторной коры у крыс вызывает стойкие нарушения двигательных и поведенческих функций, наиболее выраженные в первые сутки после травмы, с их постепенным восстановлением в течение последующих дней [5].

В эксперименте 1 было установлено, что все испытуемые фармакологические агенты на 7-е сутки давали достоверное улучшение функции передних и задних лап в тесте «Стимулирование конечностей». В то же время достоверных различий между активностью испытуемых лекарственных средств получено не было (табл. 2).

В тесте ОП мафедин, вводимый в дозе 2,5 мг/кг, статистически значимо увеличивал показатель ОДА ($p=0,0096$) по сравнению с контрольной группой. Важно отметить, что при введении данного средства в дозе

Таблица 2. Влияние исследуемых препаратов на функции конечностей животных после ЧМТ в тесте «Стимулирование конечностей» (эксперимент 1). Результаты представлены в сумме баллов

Table 2. Effects of the studied drugs on limb functions in experimental animals after traumatic brain injury in the Limb Placing test (Experiment 1). The results are presented as the sum of points

Группа	1-й день	3-й день	7-й день
Интактные	14 (14; 14)**	14 (14; 14)**	14 (14; 14)**
Контроль (травма)	0 (0; 1,5)	5 (4; 7)	8 (6; 8)
Клонидин, 40 мкг/кг	0,5 (0; 3,5)	9,5 (7,25; 12)**	10 (9,5; 12)**
Мафедин 2,5 мг/кг	0 (0; 4)	8 (5; 10)	12 (7; 12)*
Мафедин 5 мг/кг	2 (0,25; 3)	9 (7,5; 9,25)**	11 (9,25; 12)**

Примечание: * — достоверное отличие ($p<0,05$), ** — достоверное отличие ($p<0,01$) от соответствующего контрольного показателя.

Note: * — significant difference ($p<0.05$), ** — significant difference ($p<0.01$) from the corresponding control indicator.

5 мг/кг положительный эффект не наблюдался. Клонидин не продемонстрировал статистически значимого улучшения показателей ОДА и ПИА в данном тесте (табл. 3).

Ни клонидин, ни мафедин в обеих дозах не приводили к изменению времени нахождения крыс в открытых и закрытых рукавах в тесте ПКЛ. ОДА и время нахождения в центре лабиринта у животных данных групп также не отличались от контроля.

Ни одно из испытуемых лекарственных средств не увеличивало частоту использования контралатеральной лапы в тесте «Цилиндр».

В тесте «Сужающаяся дорожка» как клонидин, так и мафедин в обеих дозах улучшали состояние двигательной функции передней

конечности. Мафедин в дозах 2,5 и 5 мг/кг в данном тесте также улучшал функцию задней конечности травмированных крыс ($p=0,0381$ и $p=0,0205$ соответственно). Достоверных различий между результатами двух доз мафедина получено не было (табл. 4).

Введение мафедина или клонидина травмированным животным несколько улучшало функцию передних конечностей в Staircase тесте. Однако из-за большого разброса результатов внутри группы данные улучшения не были статистически достоверными.

В эксперименте 2 в тесте «Стимулирование конечностей» мафедин в дозе 2,5 мг/кг на 3-е сутки достоверно улучшал функцию передних и задних конечностей травмиро-

Таблица 3. ОДА и ПИА животных в тесте ОП на 3-и сутки после травмы (эксперимент 1)

Table 3. Total motor activity and exploratory activity of the experimental animals in the Open Field test on the 3rd day after injury (Experiment 1)

Группа	ОДА, баллы	ПИА, баллы
Интактные	26,4±3,1**	8,1±1,8**
Контроль (травма)	2,4±1,5	0,4±0,4
Клонидин, 40 мкг/кг	16,9±3,7	2,2±0,8
Мафедин 2,5 мг/кг	31,9±10,6**	3,3±1,3
Мафедин 5 мг/кг	3,2±1,5	0,7±0,7

Примечание: * — достоверное отличие ($p<0,05$), ** — достоверное отличие ($p<0,01$) от соответствующего контрольного показателя.

Note: * — significant difference ($p<0.05$), ** — significant difference ($p<0.01$) from the corresponding control indicator.

Таблица 4. Степень выраженности сенсомоторного дефицита передней (СД-П) и задней (СД-З) контралатеральных конечностей животных в тесте «Сужающаяся дорожка» на 7-е сутки после травмы (эксперимент 1)

Table 4. The severity of sensory-motor deficit in the anterior (SD-A) and hind (SD-H) contralateral limbs of the experimental animals in the Beam Walking test on the 7th day after injury (Experiment 1)

Группа	СД-П, %	СД-З, %
Интактные	1,5±0,5**	2,7±0,7**
Контроль (травма)	29,2±3,4	25,5±4,8
Клонидин, 40 мкг/кг	8,1±0,8**	17,2±1,4
Мафедин 2,5 мг/кг	9,7±1,5**	14,5±2,3*
Мафедин 5 мг/кг	8,7±2,1**	13,3±2,5*

Примечание: СД-П — сенсомоторный дефицит передней лапы, СД-З — сенсомоторный дефицит задней лапы; * — достоверное отличие ($p<0,05$) от соответствующего контрольного показателя.

Note: СД-П (Rus.) is the sensory-motor deficit of the anterior paw, СД-З (Rus.) is the sensory-motor deficit of the hind paw; * — significant difference ($p<0.05$) from the corresponding control indicator.

ванных животных в данном тесте по сравнению с контролем ($p=0,0484$). Йохимбин отменял положительный эффект мафедина в данном тесте на 3-е сутки после травмы ($p=0,0071$) (рис. 1).

В тесте ОП в эксперименте 2, как и в эксперименте 1, мафедин увеличивал ОДА у травмированных животных ($p=0,0158$), при этом введение йохимбина в эквимольных количествах блокировало данный эффект ($p=0,0012$). Мафедин не продемонстрировал статистически значимого увеличения ПИА, однако было получено достоверное отличие между группами мафедина и мафедина с йохимбином ($p=0,0238$) (рис. 2).

Мафедин в дозе 2,5 мг/кг не оказывал влияния на поведение травмированных животных в тесте ПКЛ в эксперименте 2. Однако одновременное введение йохимбина с мафедином приводило к достоверному снижению времени нахождения в открытых рукавах ($p=0,0196$) и общей двигательной активности у травмированных животных ($p=0,0030$) по сравнению с группой мафедина.

В эксперименте 2 мафедин в дозе 2,5 мг/кг увеличивал частоту использования контралатеральной конечности травмированными животными в тесте «Цилиндр» ($p=0,0361$), при этом йохимбин не отменял его положительного эффекта.

В тесте «Сужающаяся дорожка» в эксперименте 2 мафедин в дозе 2,5 мг/кг, как и в эксперименте 1, улучшал функцию передней и задней конечностей у травмированных животных. Введение йохимбина не отменяло положительного эффекта мафедина.

В эксперименте 2 так же, как и в эксперименте 1, мафедин в дозе 2,5 мг/кг не оказывал статистически значимого положительного эффекта на функцию передней контралатеральной конечности в тесте Staircase.

Объем повреждения головного мозга у крыс на 7-е сутки после недельного введения мафедина в дозе 2,5 мг/кг был достоверно меньше по сравнению с контрольной группой (рис. 3). Введение же клонидина

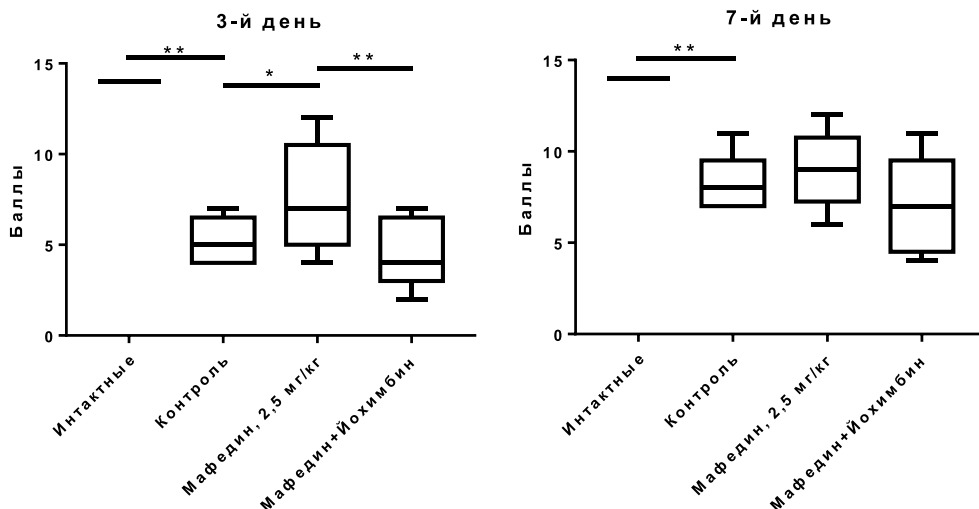


Рис. 1. Влияние исследуемых препаратов на функции конечностей животных после ЧМТ в тесте «Стимулирование конечностей» (эксперимент 2). * — достоверное отличие ($p<0,05$), ** — достоверное отличие ($p<0,01$) от соответствующего контрольного показателя.

Fig. 1. Effects of the studied drugs on limb function in experimental animals after traumatic brain injury in the Limb Placing test (Experiment 2). * — significant difference ($p<0,05$), ** — significant difference ($p<0,01$) from the corresponding control indicator.

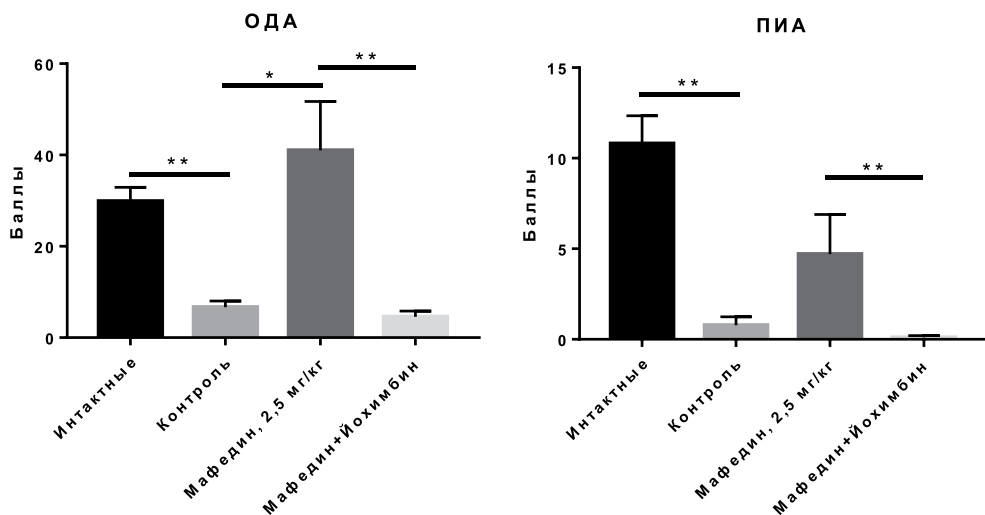


Рис. 2. ОДА и ПИА животных в тесте ОП на 3-и сутки после травмы (эксперимент 2). * — достоверное отличие ($p < 0,05$), ** — достоверное отличие ($p < 0,01$) от соответствующего контрольного показателя.

Fig. 2. Total motor activity and exploratory activity of the experimental animals in the Open Field test on the 3rd day after injury (Experiment 2). * — significant difference ($p < 0,05$), ** — significant difference ($p < 0,01$) from the corresponding control indicator.

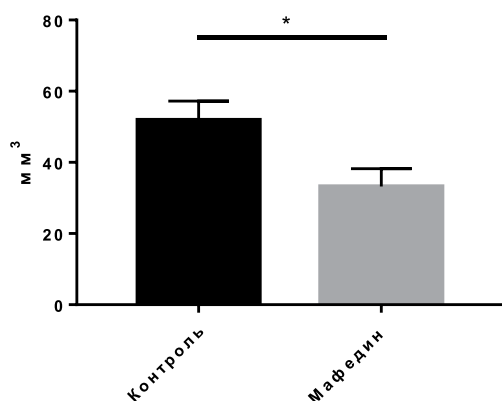


Рис. 3. Влияние мафедина на объем повреждения головного мозга крыс после ЧМТ. * — достоверное отличие ($p < 0,05$) от соответствующего контрольного показателя.

Fig. 3. Effect of mafedin on the amount of brain damage in rats after traumatic brain injury. * — significant difference ($p < 0,05$) from the corresponding control indicator.

в течение недели не приводило к статистически значимому уменьшению объема повреждения.

При гистологическом исследовании в ткани мозга крыс после травмы в нетравмированной полушарии наблюдались реактивные изменения, проявившиеся

в основном в значительном расширении периваскулярных пространств, цитоархитектоника коры не была нарушена (рис. 4А). В противоположном полушарии отчетливо виден очаг повреждения ткани мозга, где на большом протяжении структуры коры и белого вещества не определяются, видны небольшие свободные пространства, но в основном разрушенная ткань замещена зернистыми шарами — макрофагами, утилизирующими разрушенную ткань мозга (рис. 4Б). У животных с такой же травмой, но получавших в качестве лечения мафедин в дозе 2,5 мг/кг, очаг некроза также определяется, видны небольшие полости, мелкие кровоизлияния и небольшие участки ткани, лишённые клеток, но, в отличие от животных контрольной группы, в этом случае зернистые шары практически отсутствуют, а количество глиальных клеток и тканевых макрофагов в некоторых участках не увеличено, в других даже уменьшено (рис. 4В).

У крыс, перенесших черепно-мозговую травму, на 7-е сутки наблюдали достоверное увеличение содержания общего белка по сравнению с контрольными животными

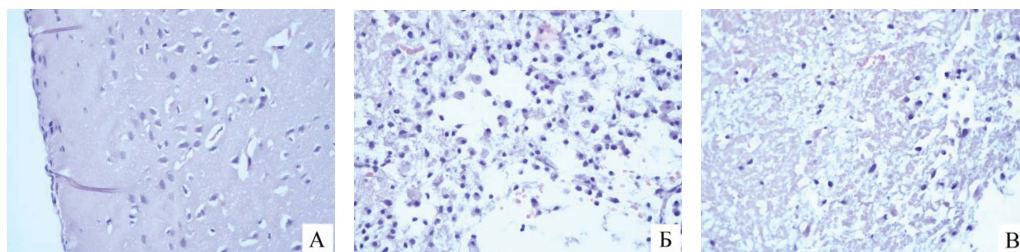


Рис. 4. А — головной мозг здорового полушария травмированных животных на 7-е сутки после травмы. Цитоархитектоника коры сохранена, периваскулярные пространства резко расширены. Б — головной мозг травмированного полушария животных на 7-е сутки после травмы. Ткань мозга разрушена, замещена грануляционной тканью с большим количеством зернистых шаров. В — ткань головного мозга травмированного полушария животных, которым вводили мафедин в дозе 2,5 мг/кг в течение 7 дней. Ткань мозга разрушена, нейропил несколько разрежен, количество глиальных клеток и макрофагов не увеличено. А, Б, В — окраска гематоксилином и эозином. ув. $\times 400$.

Fig. 4. А — the brain of the healthy hemisphere in the experimental animals on the 7th day after injury. The cytoarchitecture of the cortex is preserved, the perivascular spaces are markedly enlarged. Б — the brain of the injured hemisphere in the experimental animals on the 7th day after injury. The brain tissue is destroyed and replaced with a granulation tissue with a large number of granular balls. В — the brain tissue of the injured hemisphere in experimental animals having been injected with mafedin at a dose of 2.5 mg/kg for 7 days. The brain tissue is destroyed, the neuropil is somewhat sparse, the number of glial cells and macrophages is not increased. А, Б, В — stained with hematoxylin and eosin, magn. $\times 400$.

Таблица 5. Содержание общего белка и его фракций в СМЖ крыс на 7-е сутки после травмы

Table 5. Amount of the total protein and its fractions in the spinal fluid of rats on the 7th day after injury

Показатель	Интактные	Контроль (травма)	Мафедин	Клонидин
Общий белок, мкг/мл	212,0 $\pm$ 24,1	432,7 $\pm$ 60,9*	555,9 $\pm$ 108,0	324,0 $\pm$ 26,4
165–260 кДа, мкг/мл	50,6 $\pm$ 24,8	92,6 $\pm$ 23,7	190,4 $\pm$ 49,9	74,0 $\pm$ 30,2
135–150 кДа, мкг/мл	51,9 $\pm$ 10,6	134,6 $\pm$ 45,8	166,2 $\pm$ 56,5	81,1 $\pm$ 9,3
69–85 кДа, мкг/мл	65,7 $\pm$ 25,5	193,3 $\pm$ 18,1*	108,5 $\pm$ 37,3	109,2 $\pm$ 33,4
61 кДа, мкг/мл	16,6 $\pm$ 5,3	46,9 $\pm$ 10,3*	41,8 $\pm$ 3,0	30,1 $\pm$ 11,9
60 кДа, мкг/мл	27,2 $\pm$ 7,9	100,8 $\pm$ 29,5*	110,8 $\pm$ 13,5	49,7 $\pm$ 12,3

Примечание: * — достоверное отличие ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью непараметрического критерия Краскела — Уоллиса с постхок-тестом по Данну.

Note: * — significant difference ($p < 0.05$) compared with intact animals. The statistical significance of differences was assessed using the non-parametric Kruskal — Wallis test with a post hoc Dunn's test.

ми ($p = 0,0426$). При электрофоретическом разделении белков СМЖ крыс отчетливо определялись полосы белков, которые можно условно разделить на несколько диапазонов относительно их молекулярных масс. У травмированных животных наблюдали достоверное увеличение фракций 60, 61 и 69–85 кДа. Ни мафедин, ни клонидин не оказывали достоверного влияния на содержание общего белка в СМЖ и его фракций (табл. 5).

Обсуждение результатов

Проведенными исследованиями установлено, что мафедин улучшал функцию передних и задних конечностей крыс в тестах «Стимулирование конечностей» и «Сужающаяся дорожка», однако не оказывал достоверного эффекта на частоту использования контралатеральной конечности в тестах «Цилиндр» и Staircase. Такая избирательность действия может быть связана с тем, что он действует только на

определенные системы в пределах ЦНС, инициирующие и/или контролирующие движения. При выполнении тестов «Стимулирование конечностей» и «Сужающаяся дорожка» участвует в большей степени экстрапирамидная система и спинально-стволовые рефлексы, в то время как в тестах «Цилиндр» и Staircase реализует свое действие пирамидная система, одной из ключевых функциональных структур которой является двигательная кора. Полученные результаты позволяют предполагать, что мафедин реализует свое действие именно через модуляцию спинально-стволовых рефлексов. Данное предположение может быть подкреплено тем, что другие агонисты альфа-2 адренорецепторов участвуют в инициации и/или модуляции локомоторных и постуральных рефлексов [6], которые по своему происхождению являются спинально-стволовыми [2].

Несмотря на данную избирательность действия, в тестах «Цилиндр» и «Сужающаяся дорожка» наблюдалась некоторая положительная динамика, например, в эксперименте 2 в тесте «Цилиндр» мафедин улучшал двигательную функцию передней лапы. Данные эффекты можно объяснить тем, что мафедин все же в некоторой степени действует на работу пирамидной системы, что не противоречит предположению о его действии на спинально-стволовые рефлексы, хотя в двигательной коре крыс в большей степени преобладают альфа-1 адренорецепторы [25].

Наиболее вероятным объяснением данной особенности действия мафедина представляется то, что при моделировании травмы глубина повреждения головного мозга у крыс была достаточно большой. Тем самым двигательная кора попадала не в область «полутени», а в область ядра, т.е. очага некроза, следовательно, тестируемые соединения уже не могли оказать нейропротекторного действия, и в тестах, где в большей степени требовалось участие

коры, животные, которым вводили мафедин или клонидин, были не способны показать достаточно высокий результат.

В отличие от клонидина, мафедин увеличивал общую двигательную активность травмированных крыс в тесте ОП. Увеличение ОДА может свидетельствовать о психостимулирующем действии, что в классическом понимании является нехарактерным для агонистов альфа-2 адренорецепторов [21]. Это различие в спектре фармакологического действия, возможно, обусловлено тем, что мафедин может действовать на другие подтипы альфа-2 адренорецепторов, в отличие от клонидина. Клонидин в большей степени активен по отношению к альфа-2_A адренорецепторам [9], хотя в классическом понимании он является неизбирательным агонистом. В то же время в проводимых тестах множественное сравнение не показало достоверной разницы между результатами групп мафедина в дозе 2,5 мг/кг и клонидина. Несмотря на то, что на моделях ишемии головного мозга доза клонидина 40 мкг/кг указывается как наиболее эффективная [23], снижение или увеличение дозы может привести к тому, что эффекты мафедина и клонидина будут одинаковыми. Данное предположение подтверждается тем, что клонидин в зависимости от дозы может вызывать у экспериментальных животных как анксиогенное, так и анксиолитическое действие [17]. Дозозависимость эффекта наблюдалась и у мафедина: доза 2,5 мг/кг, в отличие от дозы 5 мг/кг, увеличивала общую двигательную активность травмированных животных.

Ни мафедин, ни клонидин не изменяли времени нахождения крыс с ЧМТ в центре, в открытых и закрытых «рукавах», а также ОДА в тесте ПКЛ, что может говорить о том, что в данных дозах при курсовом введении изучаемые соединения не оказывают влияния на поведение и, в частности, уровень тревожности травмированных животных.

Поскольку йохимбин отменял положительные эффекты мафедина в тестах «Стимулирование конечностей» и ОП, можно говорить, что улучшение функций передних и задних конечностей, а также увеличение общей двигательной активности животных обусловлено действием мафедина на альфа-2 адренорецепторы. Важно, что в тесте ПКЛ при одновременном введении с мафедином йохимбина у животных снижались время в открытых «рукавах», а также ОДА, что может быть связано с тем, что йохимбин блокирует не только альфа-2 адренорецепторы, но также и различные подтипы серотониновых рецепторов [14]. Снижение серотонинергической иннервации в головном мозге у крыс приводит к депрессивно- и тревожно-подобному поведению [7], которое может проявляться в снижении времени нахождения в открытых «рукавах» и снижению общей двигательной активности в тесте ПКЛ [18].

Предполагается, что возможными механизмами нейропротекторного действия агонистов альфа-2 адренорецепторов могут быть:

1) снижение избыточного выброса норадреналина и глутамата из синапсов нейронов при возникающем энергетическом дисбалансе [24];

2) закрытие потенциал-зависимых кальциевых каналов, открываемых при NMDA-деполяризации и вызывающих избыточное накопление Ca^{2+} в нейронах [15];

3) стимуляция синтеза трофических факторов в ЦНС [19].

Можно предположить, что в ответ на травматическое повреждение мафедин, подобно другим альфа-2 адреномиметикам, способен увеличивать продукцию нейротрофинов, тем самым снижая выраженность неврологического дефицита у травмированных животных. Однако молекулярные массы данных белков достаточно малы (<20 кДа), что не позволяет их идентифицировать простым электрофоретическим разделением спинномозговой жидкости травмированных крыс.

Для оценки возможности данного механизма вносить свой вклад в положительный эффект мафедина необходимы дальнейшие исследования.

Поскольку мафедин не уменьшал содержание общего белка спинномозговой жидкости у травмированных крыс, а также не снижал содержание ни одной из основных фракций белков, можно говорить о том, что механизм положительного действия мафедина не связан с нормализацией проницаемости ГЭБ.

Морфологический анализ показал, что введение мафедина животным, перенесшим черепно-мозговую травму, приводит к снижению интенсивности воспаления в области повреждения. Скорее всего, данный эффект является не самостоятельным, а следствием снижения выброса провоспалительных факторов (например ФНО- α и IL-6), т.е. снижения интенсивности воспалительного процесса под влиянием альфа-2 адреномиметиков при повреждении головного мозга [10].

Заключение

Таким образом, введение мафедина крысам в дозе 2,5 мг/кг спустя 1 ч после ЧМТ и в течение последующих 6 дней приводит к увеличению их общей двигательной активности и улучшению функции передних и задних конечностей без влияния на поведенческие показатели. При этом происходит уменьшение объема повреждения головного мозга и снижение выраженности воспалительных процессов в области повреждения. В сравнении с клонидином при данном режиме введения мафедин более эффективен в большинстве тестов. Йохимбин отменяет большинство положительных эффектов изучаемого соединения, что позволяет говорить о том, что в положительном действии последнего принимают участие альфа-2 адренорецепторы. Отсутствие влияния мафедина на общий белок и белковый состав СМЖ травмированных крыс позволяет говорить о том, что его положи-

тельный эффект не связан с нормализацией проницаемости ГЭБ.

Выводы

1. Мафедин (6-оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропириимидин-4-олята натрия) способствует снижению неврологического дефицита и увеличению общей двигательной активности у крыс после черепно-мозговой травмы, вызванной методом контролируемого кортикального ушиба.

2. Исследуемое соединение у крыс, перенесших черепно-мозговую травму, позво-

ляет достичь уменьшения объема повреждения головного мозга, а также снижения интенсивности воспалительного процесса в очаге повреждения.

3. Наибольшая нейрореабилитационная активность мафедина наблюдается в дозе 2,5 мг/кг, сопоставимая с таковой клонидина в дозе 40 мкг/кг.

4. В реализации фармакологического эффекта мафедина основной эффект оказывает его агонистическое влияние на альфа-2 адренорецепторы, а не на процессы проницаемости ГЭБ после ЧМТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимова Н.А. Фармакологическая характеристика мафедина: дис. ... канд. биол. наук. — Ленинградский химико-фармацевтический институт. — Л., 1984.
2. Бернштейн Н.А. Очерки о физиологии движений и физиологии активности. — М.: Медицина, 1966. — 58 с.
3. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. — Л.: Медгиз, 1961. — 340 с.
4. Силачев Д.Н. Изучение новых нейротропиков на модели фокальной ишемии головного мозга: дис. ...канд. биол. наук. — Моск. гос. университет им. М.В. Ломоносова. — М., 2009.
5. Сысоев Ю.И., Оковитый С.В., Узугбунам Б.Ч. Влияние нового производного диэтиламиноэтанола на выраженность неврологического дефицита у крыс после черепно-мозговой травмы // Биомедицина. — 2018. — № 2. — С. 95–105.
6. Сысоев Ю.И., Мусиенко П.Е., Оковитый С.В. Влияние адренергических и холинергических средств на восстановление двигательных функций при поражении ЦНС // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2017. — Т. 80. — № 7. — С. 37–44.
7. Albert P.R., Vahid-Ansari F., Luckhart C. Serotonin-prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre- and post-synaptic 5-HT_{1A} receptor expression // Front Behav Neurosci. — 2014. — Vol. 8. — Pp. 199.
8. Isaev N.K., Novikova S.V., Stelmashook E.V., et al. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant skq1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat // Biochemistry (Moscow). — 2012. — Vol. 77, № 9. — P. 996–999.
9. Jasper J.R., Lesnick J.D., Chang L.K., et al. Ligand efficacy and potency at recombinant alpha2 adrenergic receptors: agonist-mediated [35S] GTPgammaS binding // Biochem Pharmacol. — 1998. — Vol. 55. — Pp. 1035–1043.
10. Jiang L., Hu M., Lu Y., et al. The protective effects of dexmedetomidine on ischemic brain injury: A meta-analysis // J Clin Anesth. — 2017. — Vol. 40. — Pp. 25–32.
11. Kamibayashi T., Maze M. Clinical uses of α -adrenergic agonists // Anesthesiology. — 2000. — Vol. 93. — Pp. 1345–1349.
12. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. — 1970. — Vol. 227. — Pp. 680–685.
13. Lowry O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — Pp. 265–275.
14. Millan M.J., Newman-Tancredi A., Audinot V., et al. Agonist and antagonist actions of yohimbine as compared to fluparoxan at alpha (2)-adrenergic receptors (AR)s, serotonin (5-HT) (1A), 5-HT(1B), 5-HT(1D) and dopamine D (2) and D (3) receptors. Significance for the modulation of frontocortical monoaminergic transmission and depressive states // Synapse. 2000. — Vol. 35, No. 2. — Pp. 79–95.
15. Nacif-Coelho C., Correa-Sales C., Chang L.L., Maze M. Perturbation of ion channel conductance alters the hypnotic response to the alpha 2-adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus coeruleus of the rat // Anesthesiology. — 1994. — Vol. 81. — Pp. 1527–1534.
16. Nirogi R., Kandikere V., Mudigonda K., et al. A simple and rapid method to collect the cerebrospinal fluid of rats and its application for the assessment of drug penetration into the central nervous system // J. Neurosci Methods. — 2009. — Vol. 178, No. 1. — Pp. 116–119.
17. Silva R.H., Kameda S.R., Carvalho R.C., et al. Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice // Psychopharmacology (Berl). — 2004. — Vol. 176. — Pp. 115–122.
18. Walf A.A., Frye C.A. The use of elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents // Nat Protoc. — 2007. — Vol. 2, No. 2. — Pp. 322–328.

19. Wen R., Cheng T., Li Y., et al. Alpha-2 adrenergic agonists induce basic fibroblast growth factor expression in photoreceptors in vivo and ameliorate light damage // *J Neurosci.* — 1996. — Vol. 16, No. 19. — Pp. 5986–5992.
20. Wilson L., Stewart W., Dams-O'Connor K., et al. The chronic and evolving neurological consequences of traumatic brain injury // *Lancet Neurol.* — 2017. — Vol. 16. — No. 10. — Pp. 813–825.
21. Wrenn C.C., Heitzer A.M., Roth A.K., et al. Effects of clonidine and methylphenidate on motor activity in Fmr1 knockout mice // *Neurosci Lett.* — 2015. — Vol. 585. — Pp. 109–113.
22. Zetterberg H., Smith D.H., Blennow K. Biomarkers of mild traumatic brain injury in cerebrospinal fluid and blood // *Nat Rev neurol.* — 2013. — Vol. 9, No. 4. — Pp. 201–210.
23. Zhang Y. Clonidine preconditioning decreases infarct size and improves neurological outcome from transient forebrain ischaemia in the rat // *Neuroscience.* — 2004. — Vol. 125, No. 3. — Pp. 625–631.
24. Zhang Y., Kimelberg H.K. Neuroprotection by alpha 2-adrenergic agonists in cerebral ischemia // *Curr. Neuropharmacol.* — 2005. — Vol. 3, No. 4. — Pp. 317–323.
25. Zilles K., Qü M., Schleicher A. Regional distribution and heterogeneity of alpha-adrenoceptors in the rat and human central nervous system // *J. Hirnforsch.* — 1993. — Vol. 34, No. 2. — Pp. 123–132.

REFERENCES

1. Anisimova N.A. Farmakologicheskaya karakteristika mafedina [Pharmacological characterization of mafedine]: ... dis. kand. biol. nauk [the dissertation ... candidate of biological sciences]. Leningrad chemical-pharmaceutical institute. Leningrad, 1984. (In Russian).
2. Bernshteyn N.A. Ocherki o fiziologii dvizhenij i fiziologii aktivnosti [Essays on the physiology of movements and physiology of activity]. Moscow: Medicina. 1966. 58 p. (In Russian).
3. Merkulov G.A. Kurs patogistologicheskoy tekhniki [Course of pathohistological techniques]. Leningrad: MEDGIZ, 1961. 340 p. (In Russian).
4. Silachev D.N. Izuchenie novyh nejroprotektorov na modeli fokal'noj ishemii golovnogogo mozga [The study of new neuroprotectors on the model of focal cerebral ischemia]: dis. ... kand. biol. nauk [the dissertation ... candidate of biological sciences]. Lomonosov Moscow State University. Moscow, 2009. (In Russian).
5. Sysoev Yu.I., Okovityj S.V., Uzuegbunam B.Ch. Vliyaniye novogo proizvodnogo diehtilaminoehtanola na vyrazhennost' nevrologicheskogo deficita u krysa posle cherepno-mozgovoy travmy [The influence of new diethylaminoethanol compound on the neurologic deficit in rats after traumatic brain injury]. *Biomedicina [Biomedicine]*. 2018. No. 2. Pp. 95–105. (In Russian).
6. Sysoev Yu.I., Musienko P.E., Okovityj S.V. Vliyaniye adrenergicheskikh i holinergicheskikh sredstv na vosstanovlenie dvigatel'nykh funktsij pri porazhenii CNS [Influence of cholinergic and adrenergic agents on the recovery of locomotor functions after CNS damage]. *Jeksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya [Experimental and clinical pharmacology]*. 2017. T. 80. No. 7. Pp. 37–44. (In Russian).
7. Albert P.R., Vahid-Ansari F., Luckhart C. Serotonin-prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre- and post-synaptic 5-HT1A receptor expression. *Front Behav Neurosci.* 2014. Vol. 8. Pp. 199.
8. Isaev N.K., Novikova S.V., Stelmashook E.V., et al. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant skqr1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat. *Biochemistry (Moscow)*. 2012. Vol. 77, № 9. P. 996–999.
9. Jasper J.R., Lesnick J.D., Chang L.K., et al. Ligand efficacy and potency at recombinant alpha2 adrenergic receptors: agonist-mediated [35S] GTPgammaS binding. *Biochem Pharmacol.* 1998. Vol. 55. Pp. 1035–1043.
10. Jiang L., Hu M., Lu Y., et al. The protective effects of dexmedetomidine on ischemic brain injury: A meta-analysis. *J Clin Anesth.* 2017. Vol. 40. Pp. 25–32.
11. Kamibayashi T., Maze M. Clinical uses of α_2 -adrenergic agonists. *Anesthesiology.* 2000. Vol. 93. Pp. 1345–1349.
12. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970. Vol. 227. Pp. 680–685.
13. Lowry O.H. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. Pp. 265–275.
14. Millan M.J., Newman-Tancredi A., Audinot V., et al. Agonist and antagonist actions of yohimbine as compared to fluparoxan at alpha (2)-adrenergic receptors (AR)s, serotonin (5-HT) (1A), 5-HT(1B), 5-HT(1D) and dopamine D (2) and D (3) receptors. Significance for the modulation of frontocortical monoaminergic transmission and depressive states. *Synapse.* 2000. Vol. 35. No. 2. Pp. 79–95.
15. Nacif-Coelho C., Correa-Sales C., Chang L.L., Maze M. Perturbation of ion channel conductance alters the hypnotic response to the alpha 2-adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus coeruleus of the rat. *Anesthesiology.* 1994. Vol. 81. Pp. 1527–1534.
16. Nirogi R., Kandikere V., Mudigonda K., et al. A simple and rapid method to collect the cerebrospinal fluid of rats and its application for the assessment of drug penetration into the central nervous system. *J. Neurosci Methods.* 2009. Vol. 178. No. 1. Pp. 116–119.

17. Silva R.H., Kameda S.R., Carvalho R.C., et al. Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004. Vol. 176. Pp. 115–122.
18. Walf A.A., Frye C.A. The use of elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007. Vol. 2. No. 2. Pp. 322–328.
19. Wen R., Cheng T., Li Y., et al. Alpha-2 adrenergic agonists induce basic fibroblast growth factor expression in photoreceptors in vivo and ameliorate light damage. *J Neurosci*. 1996. Vol. 16. No. 19. Pp. 5986–5992.
20. Wilson L., Stewart W., Dams-O'Connor K., et al. The chronic and evolving neurological consequences of traumatic brain injury. *Lancet Neurol*. 2017. Vol. 16. No. 10. Pp. 813–825.
21. Wrenn C.C., Heitzer A.M., Roth A.K., et al. Effects of clonidine and methylphenidate on motor activity in Fmr1 knockout mice. *Neurosci Lett*. 2015. Vol. 585. Pp. 109–113.
22. Zetterberg H., Smith D.H., Blennow K. Biomarkers of mild traumatic brain injury in cerebrospinal fluid and blood. *Nat Rev neurol*. 2013. Vol. 9. No. 4. Pp. 201–210.
23. Zhang Y. Clonidine preconditioning decreases infarct size and improves neurological outcome from transient forebrain ischaemia in the rat. *Neuroscience*. 2004. Vol. 125. No. 3. Pp. 625–631.
24. Zhang Y., Kimelberg H.K. Neuroprotection by alpha 2-adrenergic agonists in cerebral ischemia. *Curr. Neuropharmacol*. 2005. Vol. 3. No. 4. Pp. 317–323.
25. Zilles K., Qü M., Schleicher A. Regional distribution and heterogeneity of alpha-adrenoceptors in the rat and human central nervous system. *J. Hirnforsch*. 1993. Vol. 34. No. 2. Pp. 123–132.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сысоев Юрий Игоревич*, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Институт трансляционной биомедицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»;
e-mail: susoyev92@mail.ru

Yuriy I. Sysoev*, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy, Institute of Translational Biomedicine of the Saint Petersburg State University;
e-mail: susoyev92@mail.ru

Дагаев Сергей Глебович, к.м.н., ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России»

Sergey G. Dagaev, Cand. Sci. (Med.), Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency of Russia

Кубарская Лариса Георгиевна, к.б.н., ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: larkub@yandex.ru

Larisa G. Kubarskaja, Candidate of Biological Sciences, Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency of Russia;
e-mail: larkub@yandex.ru

Гайкова Ольга Николаевна, д.м.н., проф., ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России»;
e-mail: olga-gaykova@yandex.ru

Olga N. Gaikova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Institute of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency of Russia;
e-mail: olga-gaykova@yandex.ru

Узугбунам Брайт Чуквунвике, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: egbunam@yahoo.com

Brayt C. Uzuegbunam, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy;
e-mail: egbunam@yahoo.com

Модисе Кагисо, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: kayg93@gmail.com

Kagiso Modise, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy;
e-mail: kayg93@gmail.com

Маквана Терри Лидия, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: tlymakwana@gmail.com

Terry L. Makwana, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy;
e-mail: tlymakwana@gmail.com

Оковитый Сергей Владимирович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

Sergey V. Okovityi, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy;
e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author