

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1584>
УДК 615.21



Оригинальная статья / Research article

Нейропротекторная активность 5-этоксиг-2-этилтиобензимидазола (этомерзола) и 2-этилтиобензимидазола (бемитила) на модели окклюзии среднемозговой артерии

Е. Ю. Заварина, Е. К. Красова, И. А. Титович✉, А. Н. Кимаев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Титович Ирина Александровна. E-mail: irina.titovich@pharminnotech.com

ORCID: Е. Ю. Заварина – <https://orcid.org/0000-0003-4448-3270>; Е. К. Красова – <https://orcid.org/0000-0001-7785-4256>;
И. А. Титович – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>; А. Н. Кимаев – <https://orcid.org/0000-0003-4899-5548>.

Статья поступила: 14.07.2023

Статья принята в печать: 11.10.2023

Статья опубликована: 24.11.2023

Резюме

Введение. Цереброваскулярные заболевания (ЦВЗ) являются одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем, обусловленной высоким показателем смертности и инвалидности. Ведущей причиной развития ЦВЗ является инсульт. Ежегодно в мире регистрируется около 15 миллионов инсультов, по данным Всемирной федерации неврологических обществ. Стоит отметить, что у ЦВЗ ишемического генеза есть тенденция к омоложению и росту. В связи с ростом заболеваемости ЦВЗ остро стоит вопрос о поиске перспективных нейропротекторов.

Цель. Изучить нейропротекторную активность 5-этоксиг-2-этилтиобензимидазола (этомерзола) и 2-этилтиобензимидазола (бемитила) на модели окклюзии среднемозговой артерии.

Материалы и методы. В качестве модели использовалась окклюзия средней мозговой артерии (ОСМА). Объект исследования – инбредные крысы-самцы линии Dark Agouti, рандомизированные на пять групп: группу интактных животных и четыре группы с ОСМА: группу контроля, группу с введением 5-этоксиг-2-этилтиобензимидазола (этомерзола, 25 мг/кг), группу с введением 2-этилтиобензимидазола (бемитила, 25 мг/кг) и группу с препаратом сравнения – диметилфумаратом (ДМФ, 100 мг/кг). На 1, 3 и 7-е сутки после операции проводили тест «Стимулирование конечностей» (СК). На 7-е сутки проводили тесты «Открытое поле» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Эвтаназию осуществляли на 7-е сутки в индукционной камере (Bioscapse GmbH, CO₂-бокс для эвтаназии, Германия).

Результаты и обсуждение. Исследование показало выраженный фармакологический эффект этомерзола в модели острого ишемического инсульта. Введение бемитила, этомерзола и ДМФ достоверно снижало неврологический дефицит через 24 часа после ОСМА и улучшало психофункциональное состояние на 7-е сутки. Так, в группе этомерзола на первые сутки после операции неврологический дефицит был снижен в 1,9 раз ($p < 0,05$), а на третьи в 2,0 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. В то время как бемитил и ДМФ снижали показатель в 1,3 ($p < 0,05$) и 1,4 раза ($p < 0,05$) на третьи сутки и в 1,5 раза ($p < 0,05$) на 7-е сутки. В тесте ОП в группе этомерзола наблюдалось увеличение ГДА в 2,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Показатель заглядываний в норки в группах этомерзола и бемитила был выше, чем у контрольной группы, в 2,6 ($p < 0,05$) и 3,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. Поисково-исследовательская активность была повышена в этих же группах в 2,0 ($p < 0,05$) и 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными. В тесте ПКЛ у групп этомерзола и ДМФ наблюдалось увеличение числа стоек в рукавах по сравнению с контрольной группой в 2,7 ($p < 0,05$) и 3,8 раза ($p < 0,05$) соответственно. В группах этомерзола и бемитила отмечалось увеличение количества свешиваний в 3,4 ($p < 0,05$) и 6,2 раза ($p < 0,05$).

Заключение. Данные, полученные в ходе исследования активности бензимидазолов после ишемического инсульта, свидетельствуют о достоверном повышении двигательной активности животных в тестах ОП, что может говорить о психостимулирующем и потенциальном ноотропном эффекте этомерзола и бемитила, а увеличение количества стоек и свешиваний в тесте ПКЛ может быть расценено как проявление анксиолитической активности. В нашем исследовании выраженность фармакологических эффектов ДМФ уступала бензимидазолам. Однако достоверное снижение неврологического дефицита в тесте СК и повышение количества стоек в рукавах в ПКЛ могут свидетельствовать о наличии у препарата анксиолитической активности. Полученные результаты подчеркивают важность проведения дополнительных исследований по оценке эффективности ДМФ при ОСМА.

Ключевые слова: инсульт, бемитил, этомерзол, диметилфумарат, нейропротекторы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. Ю. Заварина проводила сбор и систематизацию материала, работала с табличным материалом, участвовала в написании текста. Е. К. Красова осуществляла сбор данных из литературных источников, проводила сбор и анализ полученных данных, отвечала за написание и редактирование текста статьи, оформление текста статьи. И. А. Титович и А. Н. Кимаев отвечали за концепцию и дизайн исследования, редактирование текста статьи, научное консультирование и утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Заварина Е. Ю., Красова Е. К., Титович И. А., Кимаев А. Н. Нейропротекторная активность 5-этоксиг-2-этилтиобензимидазола (этомерзола) и 2-этилтиобензимидазола (бемитила) на модели окклюзии среднемозговой артерии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):231–238. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1584>

© Заварина Е. Ю., Красова Е. К., Титович И. А., Кимаев А. Н., 2023

© Zavarina E. Yu., Krasova E. K., Titovich I. A., Kimaev A. N., 2023

Neuroprotective Activity of 5-ethoxy-2-ethylthiobenzimidazole (Etomerzol) and 2-ethylthiobenzimidazole (Bemtil) in a Model of Middle Cerebral Artery Occlusion

Ekaterina Yu. Zavarina, Elena K. Krasova, Irina A. Titovich✉, Aleksandr N. Kimaev

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Irina A. Titovich. E-mail: irina.titovich@pharminnotech.com

ORCID: Ekaterina Yu. Zavarina – <https://orcid.org/0000-0003-4448-3270>; Elena K. Krasova – <https://orcid.org/0000-0001-7785-4256>; Irina A. Titovich – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>; Aleksandr N. Kimaev – <https://orcid.org/0000-0003-4899-5548>.

Received: 14.07.2023

Revised: 11.10.2023

Published: 24.11.2023

Abstract

Introduction. Cerebrovascular diseases (CVD) are one of the most pressing medical and social problems due to the high rate of mortality and disability. Stroke is the leading cause of CVD. About 15 million strokes are registered annually in the world according to the World Federation of Neurological Societies. It should be noted that CVD of ischemic origin has a tendency to rejuvenation and growth. Traditionally, in clinical practice, antihypoxic, antioxidant agents, as well as drugs with neuroprotective and neurorehabilitation effects are used to treat CVD. In connection with the increase in the incidence of CVD, there is an urgent need to search for promising neuroprotectors.

Aim. To study the neuroprotective activity of 5-ethoxy-2-ethylthiobenzimidazole (etomerzol) and 2-ethylthiobenzimidazole (bemtil) in a model of middle cerebral artery occlusion.

Materials and methods. Occlusion of the middle cerebral artery (OMCA) was used as a model. The object of the study was inbred male rats of the Dark Agouti line, randomized into five groups: a group of intact animals and four groups with OSMA: a control group, a group with the introduction of 5-ethoxy-2-ethylthiobenzimidazole (etomerzole, 25 mg/kg), a group with the introduction of 2-ethylthiobenzimidazole (bemtil, 25 mg/kg) and a group with the reference drug dimethyl fumarate (DMF, 100 mg/kg). On the 1st, 3rd, and 7th days after the operation, the "Limb Stimulation" (SC) test was performed. On the 7th day, the tests "Open field" (OP) and "Elevated plus maze" (EPM) were performed. Euthanasia was performed on the 7th day in an induction chamber (Bioscience GmbH, CO₂ box for euthanasia, Germany).

Results and discussion. The study showed a pronounced pharmacological effect of etomerzole in a model of acute ischemic stroke. The introduction of bemtil, etomerzol and DMF significantly reduced the neurological deficit 24 hours after OSMA and improved the psycho-functional state on the 7th day. Thus, in the etomerzol group on the first day after surgery, the neurological deficit was reduced by 1.9 times ($p < 0.05$), and by 3 and 2.0 times ($p < 0.05$) compared with the control group. While bemtil and DMF reduced the index by 1.3 ($p < 0.05$) and 1.4 times ($p < 0.05$) on the 3rd day and by 1.5 times ($p < 0.05$) on the 7th day. In the OP test in the etomerzol group, an increase in HDA by 2.7 times ($p < 0.05$) was observed compared with the control. The rate of peering into minks in the etomerzol and bemtil groups was higher than in the control group by 2.6 ($p < 0.05$) and 3.4 times ($p < 0.05$), respectively. Search and research activity was increased in the same groups by 2.0 ($p < 0.05$) and 2.2 times ($p < 0.05$) compared to control animals. In the PCL test, the etomerzol and DMF groups showed an increase in the number of uprights in the sleeves compared to the control group by 2.7 ($p < 0.05$) and 3.8 times ($p < 0.05$), respectively. In the etomerzol and bemtil groups, there was an increase in the number of overhangs by 3.4 ($p < 0.05$) and 6.2 times ($p < 0.05$).

Conclusion. The data obtained during the study of the activity of benzimidazoles after ischemic stroke indicate a significant increase in the motor activity of animals in the OP tests, which may indicate a psychostimulating and potential nootropic effect of etomerzole and bemtil, and an increase in the number of racks and hangings in the PCL test can be regarded as manifestation of anxiolytic activity. In our study, the severity of the pharmacological effects of DMF was inferior to benzimidazoles. However, a significant decrease in neurological deficit in the SC test and an increase in the number of uprights in the sleeves in the PCL may indicate the presence of anxiolytic activity in the drug. The results obtained underline the importance of conducting additional studies to evaluate the effectiveness of DMF in OSMA.

Keywords: ischemic stroke, bemtil, etomerzole, dimethyl fumarate, neuroprotectors

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Ekaterina Yu. Zavarina collected and systematized the material, worked with tabular material, and participated in writing the text. Elena K. Krasova collected data from literary sources, collected and analyzed the data obtained, was responsible for writing and editing the text of the article, and the design of the text of the article. Irina A. Titovich and Aleksandr N. Kimaev were responsible for the concept and design of the study, editing the text of the article, scientific advice and approval of the final version of the article for publication.

Funding. The results of the work were obtained using equipment the Core Shared Research Facilities "Analytical Center" of the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2021-685; dated 26 July 2021 on the provision of the Federal budget grants).

For citation: Zavarina E. Yu., Krasova E. K., Titovich I. A., Kimaev A. N. Neuroprotective activity of 5-ethoxy-2-ethylthiobenzimidazole (etomerzol) and 2-ethylthiobenzimidazole (bemtil) in a model of middle cerebral artery occlusion. *Drug development & registration*. 2023;12(4):231–238. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1584>

ВВЕДЕНИЕ

Инсульт – одна из ведущих причин смертности и инвалидности во всем мире. По данным Ассоциации американских кардиологов, 85 % инсультов опосредовано ишемией головного мозга, а 15 % – кровоизлиянием в мозг [1]. По экспертным оценкам

Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), инсульт занимает второе место в мире среди причин смертности [2]. В России зарегистрировано более 1 миллиона граждан после перенесенного инсульта, из них 80 % в дальнейшем признаны инвалидами [3].

Церебральная ишемия, вызванная окклюзией церебральных артерий, приводит к недостатку кровоснабжения и, следовательно, к меньшему поступлению глюкозы и кислорода в клетки головного мозга, что запускает патофизиологические состояния, включая усиление окислительного стресса, воспаления, эксайтотоксичности и кульминации в гибели нервных клеток [4–6].

Среди фармакологических средств, используемых для нейропротекции и улучшения восстановления неврологических функций, традиционно обсуждаемыми являются органопрепараты, антигипоксанта и ноотропы [7–9]. Перспективным представляется использование препаратов класса синтетических адаптогенов, обладающих антигипоксической, антиоксидантной и антиаггенической активностью [10–13]. Однако прямого сравнения нейропротекторной эффективности этих препаратов на модели окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) не проводилось.

Цель работы. Изучить нейропротекторный эффект синтетических адаптогенов – 5-этокси-2-этилтиобензимидазола (этомерзол) и 2-этилтиобензимидазола (бемитил) на модели ОСМА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были 5-этокси-2-этилтиобензимидазол (этомерзол) и 2-этилтиобензимидазол (бемитил), ресинтезированные на кафедре органической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава РФ. Препаратом сравнения был выбран диметилфумарат (ДФ), продемонстрировавший в эксперименте способность уменьшать выраженность повреждения мозга при ишемическом поражении [14–16].

Исследование выполнено с соблюдением принципов Европейской конвенции¹, Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС² и Решением Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 81 «Правила надлежащей лабораторной практики ЕАЭС в сфере обращения лекарственных средств».

Эксперимент проводили на 50 инбредных крысах-самцах линии Dark Agouti в возрасте 8–12 недель, массой 200–220 г, полученных из вивария ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Животные содержались по 5 особей в вентилируемых клетках RairIsoSystem (Bioscare GmbH, Германия) при температуре воздуха 20–22 °С, относительной влажности 40–60 %, световом режиме 12:12 с включением света в 8⁰⁰. Крысы получали *ad libitum* корм «Полнорацционный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая».

¹ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986 г.).

² Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Непосредственно перед началом исследования животные были рандомизированы методом случайных чисел на 5 групп ($n = 10$): группа 1 – интактные животные, группы 2–5 были прооперированы по методике E. Z. Longa et al. [17]. Контрольной группе 2 вводили изотонический р-р натрия хлорида в эквивалентных количествах, группа 3 получала бемитил в дозе 25 мг/кг, группа 4 получала этомерзол в дозе 25 мг/кг, группа 5 получала диметилфумарат в дозе 100 мг/кг. Выбор доз был основан на литературных данных [18–20].

Крыс наркотизировали комбинацией: золетил (25 + 25 мг/кг, Virbac, Франция) и ксилазин (3 мг/кг, Interchemie werken "De Adelaar" BV, Нидерланды). Выполняли срединный разрез в области шеи и выделяли правую общую сонную артерию (ОСА), внешнюю сонную артерию (ВНСА) и внутреннюю сонную артерию (ВСА). Накладывали лигатуру на ВСА и микрососудистую клипсу на ОСА, после чего перерезали ВНСА дистальнее наложения нити. Гепаринизированную нейлоновую нить диаметром 0,25 мм, покрытую силиконом, вводили через культю ВНСА во ВСА на глубину 19–20 мм [до перекрытия средней мозговой артерии (СМА)] и фиксировали клипсой. Перекрытие кровотока сохранялось в течение 45 мин, после чего нить извлекали из сосуда, восстанавливая кровоснабжение в бассейне СМА. После извлечения нити культю ВНСА закрывали коагуляцией электрокаутером до полной герметичности, после чего операционную рану ушивали и обрабатывали 5%-м раствором бриллиантового зеленого. Исследуемые вещества вводили внутривентрально спустя час после операции и далее 1 раз в сутки в течение 7 дней.

Исследование проводили в соответствии со схемой, изображенной в таблице 1.

На 1, 3 и 7-е сутки после операции у крыс оценивали выраженность неврологического дефицита с помощью теста «Стимулирование конечностей». Тест предполагает балльную оценку ответа передних и задних коллатеральных конечностей на тактильную и проприоцептивную стимуляцию в 7 последовательных испытаниях [21].

На 7-е сутки после операции проводили тесты «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Тест ОП является классической моделью, используемой для определения уровня стресса, вызванного открытым пространством и ярким освещением, что способствует выявлению особенностей высшей нервной деятельности животных в норме и при действии различных экстремальных факторов.

В тесте ОП передвижение животных осуществлялось в установке (ООО «НПК Открытая наука», Россия) с видеофиксацией в течение 3 минут. Интенсивность освещения составляла 250 ± 15 Лк. По результатам теста оценивали горизонтальную двигательную активность (ГДА) (количество заходов на периферию

Таблица 1. Схема эксперимента

Table 1. Experimental schedule

День 0 Day 0	День 1 Day 1	День 2 Day 2	День 3 Day 3	День 4 Day 4	День 5 Day 5	День 6 Day 6	День 7 Day 7
Утро Моделирование ишемического инсульта с помощью МСАО по методике Longa. 1 час после операции – введение ЛС Morning Modeling of ischemic stroke using MCAO according to the Longa method. 1 hour after surgery – drug administration	Тест СК. Введение ЛС LPT. Drug administration	Введение ЛС Drug administration	Тест СК. Введение ЛС LPT. Drug administration	Введение ЛС Drug administration	Введение ЛС Drug administration	Введение ЛС Drug administration	Тест СК. Тесты ОП, ПКЛ LPT. OF EPM

Примечание. ЛС – лекарственные средства; СК – «Стимулирование конечностей»; ОП – «Открытое поле»; ПКЛ – «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Note. LPT – Limb Placing test; OF – Open Field; EPM – Elevated Plus Maze.

арены; на 2/3 арены; в центре арены), вертикальную двигательную активность [количество стоек с упором в стенку, количество стоек на весу (без упора в стенку)], груминг, количество заглядываний в норки, поисково-исследовательскую активность (сумма вертикальных перемещений и заглядываний), общую двигательную активность (ОДА – сумма показателей горизонтальных, вертикальных перемещений, заглядываний в норки) [22].

Тест ПКЛ позволяет оценить тревожность животного по количеству входов в открытые и закрытые рукава. Нахождение животных в закрытых рукавах и снижение количества перемещений показывают низкий уровень тревожности и могут расцениваться как скрытая эмоциональная напряженность (состояние, близкое к естественному).

В тесте ПКЛ проводили видеофиксацию передвижений животных в установке (ООО «НПК Открытая наука», Россия) в течение 3 минут, после чего определяли (в ручном режиме) время нахождения в открытых рукавах (ОР), в закрытых рукавах (ЗР) и в центре, количество заходов в ОР и ЗР, количество стоек, грумингов, выглядываний из ЗР и свисаний с ОР, ОДА [23].

Эвтаназию осуществляли на 7-е сутки в индукционной камере (Bioscaper GmbH, CO₂-бокс для эвтаназии, Германия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью комплекта программного обеспечения GraphPad Prism 8.2.0. (GraphPad Software, США). Нормальность распределения количественных признаков проверяли с помощью W-критерия Шапиро – Уилка (все данные имели нормальное распределение). Значимость различий оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с post-hoc-тестом по Даннетту. Числовые данные приведены в таблицах как среднее арифметических

(M) ± ошибка среднего (m). В тесте СК данные представлены как медиана (нижний квартиль; верхний квартиль). Результаты тестов СК, ОП, ПКЛ имеют 95 % доверительный интервал.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 1-е сутки после проведения операции в тесте СК наблюдали выраженный неврологический дефицит [в 2,6 раза ($p < 0.05$)] в группе контроля по сравнению с интактными животными (рисунок 1). В группах, которым вводили бемитил и ДМФ, на 1-е сутки наблюдали умеренные неврологические нарушения, в то время как этомерзол (25 мг/кг) снижал отрицательное действие ОСМА в 1,9 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. На 3-и сутки неврологический дефицит в группе этомерзола статистически значимо снизился в 2 раза ($p < 0,05$), в группе бемитила в 1,3 раза ($p < 0,05$) и в группе ДМФ в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. На 7-е сутки выраженность неврологического дефицита в группах бемитила и ДМФ была в 1,5 раза ($p < 0,05$) ниже, в то время как у этомерзола наблюдалось уменьшение последствий ОСМА в 1,9 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (рисунок 1, таблица 2).

В тесте ОП наблюдали снижение всех видов активности в группе контроля по отношению к интактным животным, что свидетельствует о формировании патологии и тревожном состоянии животных. Так, показатель ГДА был снижен в 2,5 раза ($p < 0,05$), количество стоек с упором в стенку уменьшилось в 2 раза ($p < 0,05$), количество стоек на весу (без упора) в 4,5 раза ($p < 0,05$), количество заглядываний в норки в 2,7 раза ($p < 0,05$), а поисково-исследовательская активность в 2,2 раза ($p < 0,05$).

Этомерзол достоверно повышал показатель ГДА в 2,7 раза ($p < 0,05$), заглядывания в норки в 2,6 раза ($p < 0,05$) и поисково-исследовательскую актив-

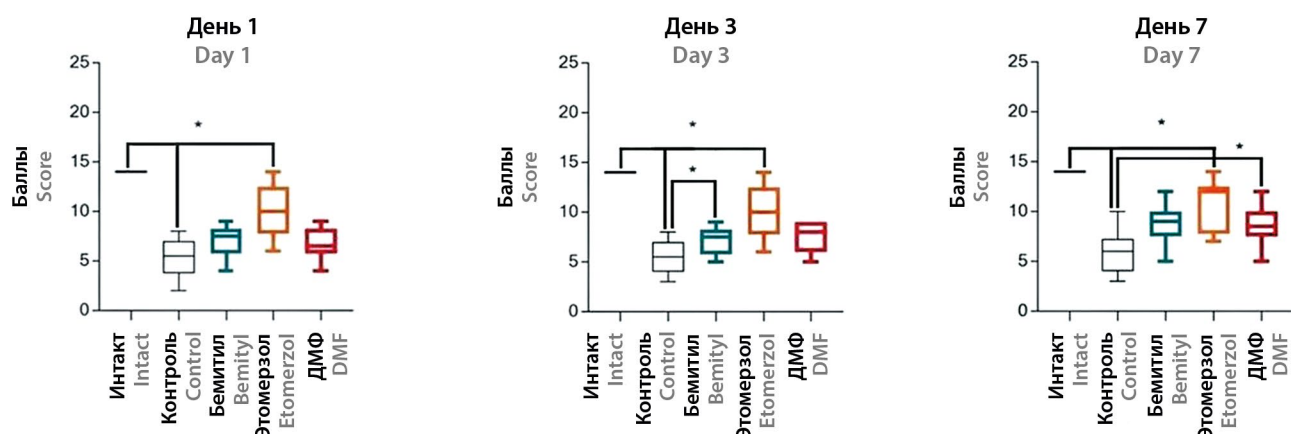


Рисунок 1. Влияние бемитила, этомерзола, ДМФ на неврологический дефицит в тесте «Стимулирование конечностей».

Примечание. * $p < 0,05$

Figure 1. Effect of bemetyl, etomerzol, DMF on neurological deficit in the Limb Placing test.

Note. * $p < 0.05$

Таблица 2. Влияние бемитила, этомерзола, ДМФ на параметры поведения крыс в «Открытом поле» спустя 7 суток после острой ишемии головного мозга ($M \pm m$, $n = 10$)

Table 2. The effect of bemetil, etomerzol, DMF on the parameters of the behavior of rats in the open field 7 days after acute cerebral ischemia ($M \pm m$, $n = 10$)

Группа животных Group	Горизонтальная двигательная активность (ГДА) Horizontal motion activity	Вертикальная двигательная активность (ВДА) Vertical motor activity		Заглядывание в норки Peeking into minks	Поисково- исследовательская активность Search and research activity
		Стойки (с упором) Rearing (with emphasis)	Стойки (на весу) Rearing (by weight)		
Интakтные Intact	27,5 $\pm$ 2,3	4,2 $\pm$ 0,8	9,5 $\pm$ 1,3	7,7 $\pm$ 1,3*	22,2 $\pm$ 1,5*
Контроль Control	11,3 $\pm$ 1,6*	2,1 $\pm$ 0,5*	2,1 $\pm$ 0,6*	2,9 $\pm$ 0,9*	10,1 $\pm$ 1,5*
Бемитил Bemetyl	20,0 $\pm$ 2,9	6,3 $\pm$ 0,8*	3,1 $\pm$ 0,7	10,0 $\pm$ 1,5*	22,4 $\pm$ 1,0*
Этомерзол Etomerzol	31,2 $\pm$ 2,6*	5,0 $\pm$ 0,9	5,7 $\pm$ 0,8*	7,4 $\pm$ 0,5*	20,2 $\pm$ 0,7*
ДМФ DMF	23,3 $\pm$ 3,06*	5,7 $\pm$ 0,5*	3,8 $\pm$ 0,5	5,0 $\pm$ 0,93	12,0 $\pm$ 1,5

Примечание. * $p < 0,05$.

Note. * $p < 0,05$.

ность в 2 раза ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе.

Бемитил увеличивал количество стоек с упором в стенку в 3 раза ($p < 0,05$), показатель заглядывания в норки в 3,4 раза ($p < 0,05$) и поисково-исследовательскую активность в 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

В целом бемитил в наибольшей степени восстанавливал реализацию ориентировочно-исследовательского рефлекса (заглядывание в норки) у крыс.

Стоит отметить, что во всех группах, где вводились нейропротекторы, наблюдалось восстановление ОДА и рефлекторно-поведенческого статуса особей, что свидетельствует о снижении психопатологи-

ческой симптоматики церебральной ишемии (рисунок 2). Наиболее выраженный эффект в отношении ОДА наблюдался у этомерзола и бемитила. Результаты этомерзола были выше в 2,7 раза ($p < 0,05$) (восстановление показателей до цифр интактной группы), а в группе бемитила – в 1,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

В тесте ПКЛ в группе контроля наблюдалось снижение количества входов в закрытый рукав в 1,5 раза ($p < 0,05$), в открытый рукав – в 3,2 раза ($p < 0,05$), количества стоек – в 5,4 раза ($p < 0,05$), свешиваний – в 8 раз ($p < 0,05$) по отношению к интактным животным (таблица 3).

Таблица 3. Показатели уровня тревожности экспериментальных животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($M \pm m, n = 10$)

Table 3. Indicators of the level of anxiety of experimental animals in the Elevated plus maze ($M \pm m, n = 10$)

Группа животных Group of animals	Количество входов Number of entrances		Количество стоек в рукавах Number of rearing in the arms	Количество свешиваний Number of head dipping
	в закрытые рукава in the closed arms	в открытые рукава in the open arms		
Интактные Intact	4,6 $\pm$ 0,3	4,2 $\pm$ 0,4*	13,0 $\pm$ 1,2*	8,7 $\pm$ 0,7*
Контроль Control	3,2 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,4*	2,4 $\pm$ 0,7*	1,1 $\pm$ 0,4*
Бемитил Bemityl	2,5 $\pm$ 0,9	2,0 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 0,5	6,8 $\pm$ 0,6*
Этомерзол Etomerzol	1,7 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,25	6,5 $\pm$ 1,0	3,8 $\pm$ 0,5
ДМФ DMF	3,9 $\pm$ 0,8	2,1 $\pm$ 0,3	9,0 $\pm$ 0,6*	3,6 $\pm$ 0,6

Примечание. * $p < 0,05$.

Note. * $p < 0,05$.

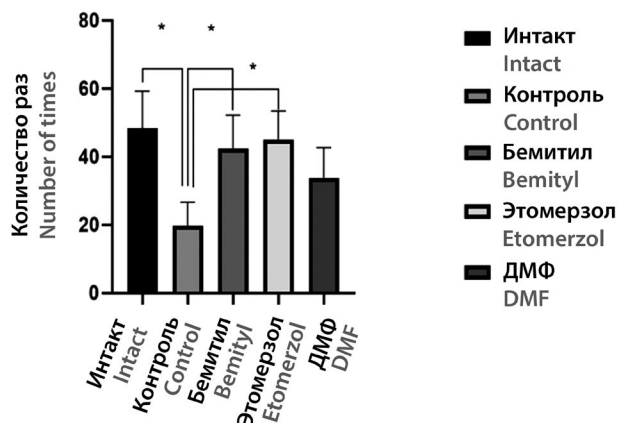


Рисунок 2. Влияние бемитила, этомерзола, ДМФ на общую двигательную активность в открытом поле.

Примечание. * $p < 0,05$

Figure 2. Influence of bemityl, etomerzol, DMF on general motor activity in the open field.

Note. * $p < 0,05$

В группах этомерзола и ДМФ наблюдались высокие значения по показателю количества стоек в рукавах, что в 2,7 ($p < 0,05$) и 3,8 раза ($p < 0,05$) выше, чем у контрольных животных. Бемитил и этомерзол оказывали наибольшее положительное влияние на число свешиваний, что превышало значение таковых в контрольной группе в 6,2 ($p < 0,05$) и 3,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. Полученные результаты могут расцениваться как уменьшение боязни высоты у крыс и, следовательно, восстановление психоэмоционального фона животных.

В ряде публикаций присутствуют сведения о психоактивных свойствах производных бензимидазолов. Так, показано, что бемитил в диапазоне доз от 5 до 150 мг/кг угнетал локомоторную активность и исследовательское поведение крыс в тесте ОП, а так-

же проявлял анксиогенные свойства [23, 24]. Данные, полученные в ходе исследования активности бензимидазолов после ишемического инсульта, свидетельствуют о достоверном повышении двигательной активности животных в тестах ОП, что может говорить о психостимулирующем и потенциальном ноотропном эффекте этомерзола и бемитила, а увеличение количества стоек и свешиваний в тесте ПКЛ может быть расценено как проявление анксиолитической активности, что согласуется с ранее проведенными работами [24]. Таким образом, можно сказать, что введение препаратов этомерзола и бемитила, с одной стороны, позволяет добиться выраженного активирующего влияния на психическую и физическую деятельность и, с другой – снизить уровень тревоги у травмированных животных. Стоит отметить, что ранее была выявлена более высокая антиоксидантная активность у этомерзола по сравнению с бемитилом [19]. В настоящем исследовании этомерзол был более эффективен в большинстве тестов.

ДМФ является диметилловым эфиром фумаровой кислоты, в отношении которого активно изучается его предполагаемое нейропротекторное действие [26–28]. Установлено, что введение ДМФ способствует снижению ICAM-1, которая играет важную роль в индукции нейровоспаления и прогрессирования повреждений после острого ишемического инсульта. Антиоксидантное действие осуществляется за счет уменьшения активности окислительного стресса, воспалительного процесса и демиелинизации нейронов [16, 29, 30]. В нашем исследовании выраженность фармакологических эффектов ДМФ уступала бензимидазолам. Однако достоверное снижение неврологического дефицита в тесте СК и повышение количества стоек в рукавах в ПКЛ могут свидетельствовать о наличии у препарата анксиолитической активности. Полученные результаты подчеркивают важность проведения дополнительных исследований по оценке эффективности ДМФ при ОСМА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, метод окклюзии средней мозговой артерии у крыс вызывает стойкий неврологический дефицит и психофункциональные расстройства, наиболее выраженные в первые сутки после операции и постепенно редуцирующие под влиянием нейропротекторов.

В сравнении с бемитилом и ДМФ в данном исследовании этомерзол был более эффективен в большинстве тестов. Так, показатель неврологического дефицита в группе этомерзола был ниже по сравнению с бемитилом и ДМФ в 1,4 ($p < 0,05$) и 1,5 раз ($p < 0,05$) соответственно. Значение горизонтальной двигательной активности в тесте ОП было увеличено в 1,6 ($p < 0,05$) (бемитил) и 1,3 раза ($p < 0,05$) (ДМФ). Поисково-исследовательская активность была выше, чем у ДМФ, в 1,7 раз. Количество стоек в тесте ПКЛ было увеличено в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с бемитилом. Умеренное восстановление психоэмоционального фона у крыс наблюдалось во всех группах, получавших нейропротекторы.

Полученные данные могут свидетельствовать о потенциальном нейропротекторном эффекте этомерзола.

ЛИТЕРАТУРА

- Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., de Ferranti S.D., Ferguson J.F., Fornage M., Gillespie C., Isasi C.R., Jiménez M.C., Chaffin Jordan L., Judd S.E., Lackland D., Lichtman J.H., Lisabeth L., Liu S., Longenecker C.T., Lutsey P.L., Mackey J.S., Matchar D.B., Matsushita K., Mussolino M.E., Nasir K., O'Flaherty M., Palaniappan L.P., Pandey A., Pandey D.K., Reeves M.J., Ritchey M.D., Rodriguez C.J., Roth G.A., Rosamond W.D., Sampson U.K.A., Satou G.M., Shah S.H., Spartano N.L., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Voeks J.H., Willey J.Z., Wilkins J.T., Wu J.H.Y., Alger H.M., Wong S.S., Muntner P. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2018;137(12):e67–e492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558.
- Пирадов М. А., Максимова М. Ю., Танащян М. М. Инсульт. Пошаговая инструкция. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020. 286 с.
- Стаховская Л. В., Ключихина О. А., Богатырева М. Д., Чугунова С. А. Анализ эпидемиологических показателей повторных инсультов в регионах Российской Федерации (по итогам территориально-популяционного регистра 2009–2014 гг.). *Consilium Medicum*. 2016;18(9):8–11.
- Vongsak J., Pratchayasakul W., Apaijai N., Vaniyapong T., Chattipakorn N., Chattipakorn S. C. The Alterations in Mitochondrial Dynamics Following Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(9):1384. DOI: 10.3390/antiox10091384.
- Yang J.-L., Mukda S., Chen S.-D. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke. *Redox Biology*. 2018;16:263–275. DOI: 10.1016/j.redox.2018.03.002.
- Klaczanova K., Kovalska M., Chomova M., Pilchova I., Tatarkova Z., Kaplan P., Racay P. Global brain ischemia in rats is associated with mitochondrial release and downregulation of Mfn2 in the cerebral cortex, but not the hippocampus. *International Journal of Molecular Medicine*. 2019;43(6):2420–2428. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4168.
- Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых. Клинические рекомендации М.: Всероссийское общество неврологов; 2021. 260 с.
- Haupt M., Gerner S.T., Bähr M., T.R. Doepfner T.R. Neuroprotective Strategies for Ischemic Stroke—Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(5):4334. DOI: 10.3390/ijms24054334.
- Paul S., Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Experimental Neurology*. 2021;335:113518. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113518.
- Оковитый С. В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения. *Психофармакология и биологическая наркология*. 2003;3(1–2):510–516.
- Макляков Ю. С., Хоронько В. В., Степанов А. А., Сергеева С. А., Мякота И. М. Сравнительное изучение фармакокинетики бемитила и его влияния на циркуляторно-метаболическое обеспечение нейронного модуля соматосенсорной коры мозга. *Биомедицина*. 2007;1(1):111–119.
- Плотникова Т. М., Кулакова З. В., Плотников М. Б. Влияние этомерзола на кровоснабжение и кислородный обмен мозга при острой транзиторной ишемии и рециркуляции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1991;107(4):386–388.
- Orellana-Urzuá S., Claps G., Rodrigo R. Improvement of a Novel Proposal for Antioxidant Treatment Against Brain Damage Occurring in Ischemic Stroke Patients. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2021;20(1):3–21. DOI: 10.2174/1871527319666200910153431.
- Kunze R. Dimethyl fumarate for ischemic stroke. *Oncotarget*. 2017;8(9):14281–14282. DOI: 10.18632/oncotarget.15357.
- Hou X., Xu H., Chen W., Zhang N., Zhao Z., Fang X., Zhang X., Chen H., Xu Yu. Neuroprotective effect of dimethyl fumarate on cognitive impairment induced by ischemic stroke. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(6):375. DOI: 10.21037/atm.2020.02.10.
- Owlfard M., Bigdeli M. R., Safari A., Haghighi M., Namavar M. R. Effect of Dimethyl Fumarate on the Motor Function and Spatial Arrangement of Primary Motor Cortical Neurons in the Sub-Acute Phase of Stroke in a Rat Model. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2021;30(4):105630. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105630.
- Lunga E. Z., Weinstein P. R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20(1):84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- Новиков В. Е., Левченкова О. С., Климкина Е. И., Кулагин К. Н. Потенцирование антигипоксантами эффекта гипоксического preconditionирования. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2019;17(1):37–44. DOI: 10.1816/RCF17137-44.
- Миронова О. П., Зарубина И. В., Шабанов П. Д. Этомерзол как антиоксидантное средство. *Биомедицинская химия*. 2003;49(5):434–442.
- Shavakandi S.-M., Ranjbaran M., Nabavizadeh F., Vali R., Sehati F., Ashabi G. Dimethyl fumarate protects the aged brain following chronic cerebral hypoperfusion-related ischemia in rats in Nrf2-dependent manner. *Nutritional Neuroscience*. 2022;25(10):2100–2110. DOI: 10.1080/1028415X.2021.1940429.
- Jolkonen J., Puurunen K., Rantakömi S., Härkönen A., Haapalinna A., Sivenius J. Behavioral effects of the alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2000;400(2–3):211–219. DOI: 10.1016/S0014-2999(00)00409-X.
- Walsh R. N., Cummins R. A. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*. 1976;83(3):482–504. DOI: 10.1037/0033-2909.83.3.482.
- Walf A. A., Frye C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
- Гамма Т. В., Коренюк И. И. Влияние бемитила и бензимидазола на поведение крыс в тесте "открытое поле". *Нейрофизиология*. 2006;38(1):71–76.
- Черетаев И. В., Коренюк И. И., Ноздрачев А. Д. Нейротропные, психоактивные и обезболивающие действия свойства бензимидазолов и его производных. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2017;103(4):381–390.
- Li J., Ma J., Lacagnina M. J., Lorca S., Odem M. A., Walters E. T., Kavelaars A., Grace P. M. Oral Dimethyl Fumarate Reduces Peripheral Neuropathic Pain in Rodents via NFE2L2 Antioxidant Signaling. *Anesthesiology*. 2020;132(2):343–356. DOI: 10.1097/ALN.000000000000307.
- Safari A., Badeli-Sarkala H., Namavar M. R., Kargar-Abarghouei E., Anssari N., Izadi S., Borhani-Haghighi A. Neuroprotective effect of dimethyl fumarate in stroke: The role of nuclear factor erythroid 2-related factor. *Iranian Journal of Neurology*. 2019;18(3):103–108.

28. Sghaier R., Nury T., Leoni V., Caccia C., Pais De Barros J.-P., Cherif A., Vejux A., Moreau T., Limem K., Samadi M., Mackrill J. J., Mas-moudi A. S., Lizard G., Zarrouk A. Dimethyl fumarate and monomethyl fumarate attenuate oxidative stress and mitochondrial alterations leading to oxiaoptophagy in 158N murine oligodendrocytes treated with 7 β -hydroxycholesterol. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2019;194:105432. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105432.
29. Iniahe L. O., Krafft P. R., Klebe D. W., Omogbai E. K. I., Zhang J. H., Tang J. Dimethyl fumarate confers neuroprotection by casein kinase 2 phosphorylation of Nrf2 in murine intracerebral hemorrhage. *Neurobiology of Disease*. 2015;82:349–358. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.07.001.
30. Farina M., Vieira L. E., Buttari B., Profumo E., Saso L. The Nrf2 Pathway in Ischemic Stroke: A Review. *Molecules*. 2021;26(16):5001. DOI: 10.3390/molecules26165001.
13. Orellana-Urzuá S., Claps G., Rodrigo R. Improvement of a Novel Proposal for Antioxidant Treatment Against Brain Damage Occurring in Ischemic Stroke Patients. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2021;20(1):3–21. DOI: 10.2174/1871527319666200910153431.
14. Kunze R. Dimethyl fumarate for ischemic stroke. *Oncotarget*. 2017;8(9):14281–14282. DOI: 10.18632/oncotarget.15357.
15. Hou X., Xu H., Chen W., Zhang N., Zhao Z., Fang X., Zhang X., Chen H., Xu Yu. Neuroprotective effect of dimethyl fumarate on cognitive impairment induced by ischemic stroke. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(6):375. DOI: 10.21037/atm.2020.02.10.
16. Owjifard M., Bigdeli M. R., Safari A., Haghighi M., Namavar M. R. Effect of Dimethyl Fumarate on the Motor Function and Spatial Arrangement of Primary Motor Cortical Neurons in the Sub-Acute Phase of Stroke in a Rat Model. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2021;30(4):105630. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105630.
17. Longa E. Z., Weinstein P. R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20(1):84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
18. Novikov V. E., Levchenkova O. S., Klimkina E. I., Kulagin K. N. Potentiation of the hypoxic preconditioning effect by antihypoxants. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(1):37–44. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF17137-44.
19. Mironova O. P., Zarubina I. V., Shabanov P. D. Etomizerol as an antioxidant. *Biomeditsinskaya himiya*. 2003;49(5):434–442. (In Russ.)
20. Shavakandi S.-M., Ranjbaran M., Nabavizadeh F., Vali R., Sehati F., Ashabi G. Dimethyl fumarate protects the aged brain following chronic cerebral hypoperfusion-related ischemia in rats in Nrf2-dependent manner. *Nutritional Neuroscience*. 2022;25(10):2100–2110. DOI: 10.1080/1028415X.2021.1940429.
21. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S., Härkönen A., Haapalinn A., Sivenius J. Behavioral effects of the alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2000;400(2–3):211–219. DOI: 10.1016/S0014-2999(00)00409-X.
22. Walsh R. N., Cummins R. A. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*. 1976;83(3):482–504. DOI: 10.1037/0033-2909.83.3.482.
23. Walf A. A., Frye C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
24. Gamma T. V., Korenyuk I. I. The effect of bemetyl and benzimidazole on the behavior of rats in the open field test. *Nejrofiziologiya*. 2006;38(1):71–76. (In Russ.)
25. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Nozdachev A. D. Neurotropic, psychoactive and analgesic effects of the properties of benzimidazoles and its derivatives. *Rossiyskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova*. 2017;103(4):381–390. (In Russ.)
26. Li J., Ma J., Lacagnina M. J., Lorca S., Odem M. A., Walters E. T., Kavelaars A., Grace P. M. Oral Dimethyl Fumarate Reduces Peripheral Neuropathic Pain in Rodents via NFE2L2 Antioxidant Signaling. *Anesthesiology*. 2020;132(2):343–356. DOI: 10.1097/ALN.000000000000307.
27. Safari A., Badeli-Sarkala H., Namavar M. R., Kargar-Abarghouei E., Anssari N., Izadi S., Borhani-Haghighi A. Neuroprotective effect of dimethyl fumarate in stroke: The role of nuclear factor erythroid 2-related factor. *Iranian Journal of Neurology*. 2019;18(3):103–108.
28. Sghaier R., Nury T., Leoni V., Caccia C., Pais De Barros J.-P., Cherif A., Vejux A., Moreau T., Limem K., Samadi M., Mackrill J. J., Mas-moudi A. S., Lizard G., Zarrouk A. Dimethyl fumarate and monomethyl fumarate attenuate oxidative stress and mitochondrial alterations leading to oxiaoptophagy in 158N murine oligodendrocytes treated with 7 β -hydroxycholesterol. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2019;194:105432. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105432.
29. Iniahe L. O., Krafft P. R., Klebe D. W., Omogbai E. K. I., Zhang J. H., Tang J. Dimethyl fumarate confers neuroprotection by casein kinase 2 phosphorylation of Nrf2 in murine intracerebral hemorrhage. *Neurobiology of Disease*. 2015;82:349–358. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.07.001.
30. Farina M., Vieira L. E., Buttari B., Profumo E., Saso L. The Nrf2 Pathway in Ischemic Stroke: A Review. *Molecules*. 2021;26(16):5001. DOI: 10.3390/molecules26165001.

REFERENCES