

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 615.21

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-3-128-133

ВЛИЯНИЕ КАППА-ОПИОИДНЫХ АГОНИСТОВ БУТОРФАНОЛА И СОЕДИНЕНИЯ РУ-1205 НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА ПРИ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

К.Ю. Калитин^{1,2}, Г.В. Придворов^{1,2}, А.А. Спасов^{1,2}, О.Ю. Муха¹

¹Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

²Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

Автор, ответственный за переписку: Константин Юрьевич Калитин, kkonst8@ya.ru

Аннотация. Высокая распространенность и тяжесть осложнений ишемического инсульта диктуют необходимость в разработке препаратов с нейропротекторной активностью. Учитывая, что глубина и степень поражения мозга при ишемии коррелируют с изменениями биоэлектрической активности, электрокортикография или внутричерепная электроэнцефалография (ЭЭГ) может выступать в качестве инструмента для оценки эффективности нейропротекторной терапии.

В исследовании был проведен анализ нейропротекторных свойств веществ с каппа-опиоидной активностью – соединения РУ-1205 и буторфанол. Нейропротективное действие веществ оценивалось по степени изменения неврологического дефицита и влиянию на биоэлектрическую активность ишемизированного мозга крыс.

Соединение РУ-1205 (10 мг/кг, в/в) в равной степени с препаратом сравнения буторфанолом (2,5 мг/кг, в/в) способствовало нормализации неврологического статуса и мощности ЭЭГ-сигнала в дельта- и тета-диапазонах частот.

Ключевые слова: ишемический инсульт, глобальная ишемия, нейропротекторы, каппа-опиоидные агонисты

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

NEUROPROTECTIVE ACTION OF BUTORPHANOL AND RU-1205 WITH EVALUATION OF THEIR EFFECT ON THE BIOELECTRICAL ACTIVITY OF THE BRAIN IN THE GLOBAL ISCHEMIA MODEL

K.Y. Kalitin^{1,2}, G.V. Pridvorov^{1,2}, A.A. Spasov^{1,2}, O.Y. Mukha¹

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

²Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia

Corresponding author: Konstantin Yu. Kalitin, kkonst8@ya.ru

Annotation. Since ischemic stroke is an extremely common and dangerous pathology, it is important to use drugs with neuroprotective activity. The depth and degree of brain damage due to ischemia are reflected in its bioelectrical activity. This makes it possible to use the electrocorticography or intracranial electroencephalography (EEG) as a tool for evaluating the effectiveness of neuroprotective therapy.

In the present study the neuroprotective properties of the experimental compound RU-1205 and the kappa-opioid agonist butorphanol were analyzed. The neuroprotective effect of the substances was assessed by measuring the extent of the neurological deficit and the changes in bioelectrical activity of the ischemic brain of rats.

Compound RU-1205 (10 mg/kg, i.v.) as well as the reference drug butorphanol (2,5 mg/kg, i.v.) restored to normal neurological status and power of the EEG signal in delta and theta frequency bands.

Keywords: ischemic stroke, global ischemia, neuroprotectors, kappa-opioid agonists

Ранее было установлено, что вещество РУ-1205 обладает агонистической активностью в отношении каппа-опиоидных рецепторов [1] (КОР), функция которых связана с нейропротекторным действием. Механизм нейропротекторной активности агонистов каппа-опиоидных рецепторов ассоциирован с активацией STAT-3 и ингибированием каспазы-3, а также с повышением продукции NO. Кроме того, сообщается о способности агонистов КОР снижать эксайтотоксичность глутамата и его высвобождение за счет подавляющего влияния на транзит ионов Ca^{2+} [2]. В качестве препарата сравнения был выбран буторфанол, нейропротективные свойства которого подтверждаются исследованием [3].

Известно, что патологические нарушения в головном мозге на фоне инсульта отражаются на электроэнцефалограмме [4]. Степень изменений биоэлектрической нейрональной активности зависит от уровня кровоснабжения тканей головного мозга. Воздействие агонистов каппа-опиоидных рецепторов на ЭЭГ проявляется в виде характерных изменений, коррелирующих с поведенческими проявлениями. Так, наблюдается появление пиков на частоте в 4–7 Гц. Следовательно, представляется возможным изучение нейропротекторных эффектов биологически активных соединений по их влиянию на биоэлектрическую активность мозга.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить влияние агонистов каппа-опиоидных рецепторов производного бензимидазола РУ-1205 и буторфанолола на биоэлектрическую активность мозга крыс и неврологические нарушения, вызванные обратной глобальной ишемией головного мозга.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 40 беспородных крысах-самцах весом 220–240 г в условиях хлоралгидратного наркоза (400 мг/кг). В исследование были включены животные, выжившие в течение не менее 2 часов после 30-минутной ишемии. Животные содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом режиме со свободным доступом к пище и воде (ГОСТ 33215-2014), в соответствии с приказом министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и требованиями директивы 2010/63/еу Европейского парламента и Совета Европейского

союза от 22.09.2010 г. по охране животных. Эксперименты были одобрены региональным исследовательским этическим комитетом Волгоградской области (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900, протокол № 2022/096 от 21 января 2022 г.).

Хлорсеребряные электроды (Ag/AgCl) имплантировали животным за 7 дней до проведения эксперимента. Животных вводили в наркоз и после исчезновения роговичного рефлекса фиксировали в стереотаксическом аппарате. Стоматологическим буром в черепе проделывались отверстия (1 мм в диаметре), в соответствии со стереотаксическими координатами электроды размещали на твердой мозговой оболочке в области префронтальной коры симметрично с обеих сторон относительно брегмы (–0,96 мм; ±1,0 мм), референс располагали над обонятельной луковицей (6,60; –2,00). После операции животные содержались в индивидуальных клетках.

Обратимую глобальную ишемию головного мозга вызывали путем двусторонней электрокоагуляции позвоночных артерий и обратимой окклюзии общих сонных артерий (ОСА) с использованием сосудистых микрозажимов. Время ишемии составляло 30 минут с последующей реперфузией путем снятия микрозажимов с ОСА.

Животных разделяли на 5 групп: 1 – «интактные» ($n = 8$), животные без оперативного вмешательства; 2 – «ложнооперированные» (ЛО) ($n = 8$), животным проводился весь комплекс оперативных манипуляций, кроме электрокоагуляции позвоночных артерий и окклюзии ОСА; 3 – «негативный контроль ишемия/реперфузия (ИР)» ($n = 8$), животным вводили 0,9% раствор NaCl в количестве 0,1 мл/100 г веса; 4 – «ИР + буторфанол» ($n = 8$), животным внутривенно вводили буторфанол (ФГУП «Московский эндокринный завод») в дозе 2,5 мг/кг; 5 – «ИР+РУ-1205» ($n = 8$), животным внутривенно вводили РУ-1205 (10 мг/кг) (НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Россия). Вещества вводились однократно за 30 минут до ИР. Оценка повреждения мозга проводилась по неврологическим нарушениям и изменениям биоэлектрической активности головного мозга.

Неврологический статус крыс оценивали, используя шкалу нейродефицита, предложенную R.G. Geocadin и соавт. [5], при этом регистрировали общие поведенческие отклонения, функции ствола головного мозга, двигательную активность, чувствительность, координацию движений, поведенческую активность,

наличие судорог. Минимальное количество баллов – 0 (смерть мозга), максимальное – 80 (отсутствие нарушений). Тестирование проводили через 24 часа после операции.

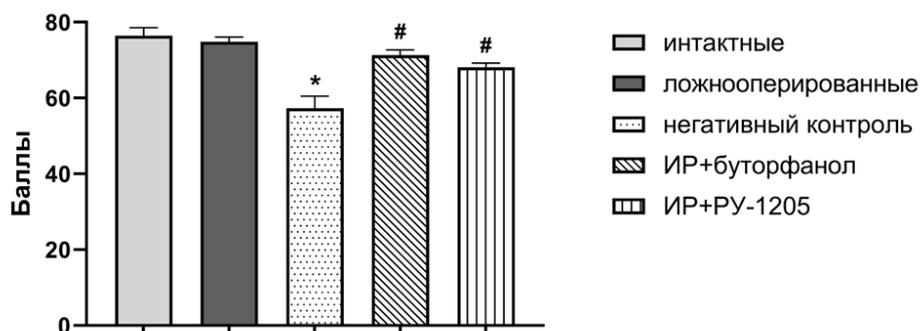
Запись ЭЭГ проводилась с использованием лабораторного электроэнцефалографа NVX-36 (МКС, Россия). ЭЭГ активность регистрировалась с частотой дискретизации 500 Гц, монополярным монтажом, импеданс электродов <5 кОм. Применялся фильтр низких частот 0,4 Гц и фильтр высоких частот 30 Гц, быстрое преобразование Фурье использовалось для вычисления мощности в δ - (0,4–4 Гц), θ - (4,8–8 Гц), α - (8–12 Гц) и β - (12–30 Гц) диапазонах. ЭЭГ регистрировали за 5 мин до и 15 мин после ишемии, а также с 60 мин после реперфузии.

Статистическая обработка данных осуществлялась методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Данна в программе GraphPad Prism 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о развитии неврологического дефицита представлены на рис.

В результате исследования выраженные неврологические нарушения были выявлены в группе негативного контроля, средний балл в которой в 1,3 раза был меньше по сравнению с группой ложнооперированных животных ($p < 0,05$). В группах, которым вводили исследуемые вещества РУ-1205 и буторфанол, выраженного неврологического дефицита не наблюдалось. У животных, получавших соединение РУ-1205, результаты тестирования на наличие признаков нейродефицита статистически значимо отличались от группы негативного контроля в 1,17 раз ($p < 0,05$). Препарат сравнения буторфанол также снижал выраженность неврологических нарушений в 1,24 раза ($p < 0,05$).



*Статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными; #статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой негативного контроля.

Рис. Влияние соединения РУ-1205 (10 мг/кг) и буторфанола (2,5 мг/кг) на средний балл неврологического дефицита (средний балл \pm SEM)

В результате развития обратимой глобальной ишемии наблюдались изменения биоэлектрической активности головного мозга у животных группы НК, что выражалось повышением спектральной плотности мощности в дельта-частотном диапазоне в 1,5 раза ($p = 0,0002$) на 15-й минуте ишемии, через 60 минут после начала реперфузии исследуемый параметр в дельта-спектре был выше в 1,26 раз ($p = 0,0087$) в сравнении с группой ложнооперированных животных.

После введения исследуемого соединения РУ-1205 происходило снижение мощности дельта-активности и повышение тета-активности на 15-й минуте ишемии и 60-й минуте реперфузии. Средняя мощность дельта-активности на 15-й минуте ишемии была ниже в 1,32 раза ($p = 0,0044$), а на 60-й минуте реперфузии – в 1,2 раза ($p = 0,04$) соответственно относительно групп крыс, не получавших нейропротективные

средства. Мощность тета-ритма была выше относительно группы НК в 1,8 раза ($p = 0,0069$) на 15-й минуте ишемии и в 1,56 раза ($p = 0,0321$) на 60-й минуте реперфузии.

В результате введения препарата сравнения буторфанола наблюдалось снижение мощности в дельта-частотном диапазоне и повышение в диапазонах тета- и альфа-. На 15-й минуте ишемии показатели в дельта-частотном диапазоне были ниже в 1,27 раза ($p = 0,015$), а показатели тета- и альфа-диапазона были выше в 1,8 раза ($p = 0,0029$) и в 1,9 раза ($p = 0,0033$) в сравнении с группой негативного контроля. На 60-й минуте мощность дельта-диапазона была снижена в 1,2 раза ($p = 0,04$), тета- и альфа-диапазона повышена в 1,6 раза ($p = 0,0196$) и в 1,47 раза ($p = 0,0443$) соответственно, относительно особей из группы НК (табл.).

Влияние соединения РУ-1205 (10 мг/кг) и буторфанол (2,5 мг/кг)
на спектральную плотность мощности ($\mu\text{В}^2/\text{Гц}$) ЭЭГ

Период		Интактные	Ложно-оперированные	Негативный контроль	ИР + буторфанол	ИР + РУ-1205
δ	за 5 мин до ишемии	36,45 ± 1,02	36,78 ± 1,10	36,23 ± 1,40	34,05 ± 1,87	35,12 ± 1,10
	15 мин ишемии	37,12 ± 0,64	36,34 ± 3,03	54,1 ± 3,1*	42,35 ± 2,48 [#]	40,75 ± 2,26 [#]
	60 мин реперфузии	36,76 ± 1,78	36,64 ± 1,86	46,23 ± 1,81*	40,29 ± 1,92 [#]	38,37 ± 2,10 [#]
θ	за 5 мин до ишемии	12,95 ± 1,04	12,54 ± 0,96	13,12 ± 1,02	16,32 ± 1,17	15,87 ± 1,30
	15 мин ишемии	13,04 ± 2,12	12,95 ± 1,23	10,16 ± 2,04	18,95 ± 1,14 [#]	18,26 ± 1,96 [#]
	60 мин реперфузии	12,10 ± 1,78	12,08 ± 1,64	11,25 ± 1,16*	17,97 ± 1,25 [#]	17,56 ± 1,36 [#]
α	за 5 мин до ишемии	10,35 ± 1,12	10,67 ± 1,14	10,13 ± 1,09	13,21 ± 1,54	9,87 ± 1,12
	15 мин ишемии	10,98 ± 1,17	11,26 ± 1,94	8,08 ± 1,36	15,57 ± 1,04 [#]	10,17 ± 1,02
	60 мин реперфузии	11,21 ± 1,34	11,41 ± 1,16	9,91 ± 1,03	14,65 ± 1,07 [#]	11,02 ± 1,10
β	за 5 мин до ишемии	17,28 ± 1,54	18,32 ± 1,32	17,02 ± 1,04	18,17 ± 1,48	17,54 ± 1,46
	15 мин ишемии	17,56 ± 1,87	18,27 ± 1,45	16,24 ± 2,14	18,92 ± 1,57	18,08 ± 1,64
	60 мин реперфузии	18,43 ± 1,48	18,26 ± 1,64	16,29 ± 1,07	18,46 ± 1,76	18,13 ± 1,15

Примечание. Данные представлены в виде $M \pm SEM$.

*Статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой ложнооперированных животных; [#]статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой негативного контроля.

В рамках выполненной работы динамику нейрофизиологических процессов в условиях глобальной ишемии оценивали по изменению спектральной плотности мощности, усредненной по 2 отведениям. Предварительное введение веществ с каппа-опиоидной активностью (буторфанол тартрата и соединения РУ-1205) способствовало повышению мощности сигнала в тета-диапазоне. Подобные изменения ЭЭГ были ранее установлены в отношении кетациклазона и энандолина, которые повышали мощность в полосе частот 4–8 Гц с формированием характерного пика на частоте 5 Гц [6].

По фармакологическим свойствам буторфанол представляет собой смешанный агонист-антагонист опиоидных рецепторов, используемый для лечения умеренной и выраженной боли [7].

Буторфанол имеет структурное сходство с пентазоцином. Считается, что буторфанол обладает низким сродством к μ -опиоидным рецепторам и высоким сродством к κ -рецепторам. Поскольку для него характерно слабое взаимодействие с μ -рецепторами,

он вызывает меньшую физическую зависимость и угнетение дыхания, что может также проявляется и в изменениях биоэлектрической активности в пределах альфа-диапазона частот. Кроме того, имеется неоднозначная информация о влиянии каппа-опиоидных агонистов на дельта-активность. В некоторых источниках сообщается о развитии интермиттирующей высокоамплитудной дельта-активности [8], в других исследованиях наблюдали снижение мощности в дельта-диапазоне [9].

Наряду с этим было показано, что повышение дельта-активности и подавление тета-активности в первые сутки после инсульта связано со снижением кровотока в нервной ткани и отеком головного мозга [10].

Клинические исследования пациентов с острым инсультом показали, что дельта-волны пораженного полушария являются чувствительным индикатором нейрональной дисфункции и связаны как с размером поражения, так и с острым неврологическим дефицитом.

Принимая во внимание, что вещества с каппа-опиоидной агонистической активностью могут вызывать седацию, изменения двигательной и поисковой активности, оценка неврологического дефицита проводилась через 24 часа после введения исследуемых соединений. Полученные нами результаты согласуются с данными о наличии нейропротективного действия у каппа-опиоидных агонистов, что было подтверждено объективными показателями неврологического дефицита и по динамике изменений биоэлектрической активности в условиях преходящей глобальной ишемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что каппа-опиоидный агонист буторфанол и соединение РУ-1205 обладают нейропротективным действием, которое было установлено в ходе комплексной оценки неврологического дефицита, а также при изучении спектрального состава электрокортикограмм крыс, подвергавшихся 30-минутной глобальной ишемии. Полученные данные указывают на перспективность дальнейшего изучения каппа-опиоидных агонистов в качестве соединений-нейропротекторов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Спасов А.А., Гречко О.Ю., Калитин К.Ю., Анисимова В.А. Рецептор-зависимые механизмы противосудорожного действия производного бензимидазола РУ-1205 в сравнении с диазепамом и U-50,488H // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81, № 2. С. 3–6.
2. Liu L.J., Yu J.J., Xu X.L. Kappa-opioid receptor agonist U50448H protects against renal ischemia-reperfusion injury in rats via activating the PI3K/Akt signaling pathway // *Acta pharmacologica Sinica*. 2018. No. 39 (1). P. 97–106.
3. Butorphanol reduces the neuronal inflammatory response and apoptosis via inhibition of p38/JNK/ATF2/p53 signaling / Huang Yingsi, Suhua Li, Huaxin Chen [et al.] // *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2022. No. 3 (23). P. 1–9.
4. Quantitative EEG and functional outcome following acute ischemic stroke / C. Bentes, A.R. Peralta, P. Viana [et al.] // *Clinical Neurophysiology*. 2018. No. 129 (8). P. 1680–1687.
5. A novel quantitative EEG injury measure of global cerebral ischemia / R.G. Geocadin, R. Ghodadra, T. Kimura [et al.] // *Clinical Neurophysiology*. 2000. No. 10 (111). P. 1779–1787.
6. Campi C.C., Geoffrey D.C. Effects of highly selective κ -opioid agonists on EEG power spectra and behavioural correlates in conscious rats // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1995. No. 4 (51). P. 611–616.
7. Butorphanol in combination with dexmedetomidine provides efficient pain management in adult burn patients / Ding Xianchao Yi Luo, Lei Shi [et al.] // *Burns*. 2021. No. 7 (47). P. 1594–1601.

8. Lemmens H.J.M., Egan T.D., Fiset P., Stanski D.R. Pharmacokinetic/dynamic assessment in drug development: application to the investigational opioid mirfentanil // *Anesthesia & Analgesia*. 1995. No. 6 (80). P. 1206–1211.
9. EEG Spectral Analysis of the Neuroprotective KappaOpioids Enadoline and PD117302 / Tortella F.C., Rose J., Robles L. [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997. No. 1 (282). P. 286–293.
10. Litvinova S.A., Kutepova I.S., Voronina T.A., Petrunina A.A. Levetiracetam effect on behavioral and electrophysiological parameters in rat model of global brain ischemia // *Epilepsy Research*, 2020. No. 167. P. 106466.

REFERENCES

1. Spasov A.A., Grechko O.Ju., Kalitin K.Ju., Anisimova V.A. Receptor-dependent mechanisms of the anticonvulsant action of the benzimidazole derivative RU-1205 in comparison with diazepam and U-50,488H. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2018;2(81):3–6. (In Russ.)
2. Liu L.J., Yu J.J., Xu X.L. Kappa-opioid receptor agonist U50448H protects against renal ischemia-reperfusion injury in rats via activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Acta pharmacologica Sinica*. 2018;39(1):97–106.
3. Huang Yingsi, Suhua Li, Huaxin Chen, Long Feng, Weixiu Yuan, Tao Han. Butorphanol reduces the neuronal inflammatory response and apoptosis via inhibition of p38/JNK/ATF2/p53 signaling. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2022;3(23):1–9.
4. Bentes C., Peralta A.R., Viana P. et al. Quantitative EEG and functional outcome following acute ischemic stroke. *Clinical Neurophysiology*. 2018;129(8):1680–1687.
5. Geocadin R.G., Ghodadra R., Kimura T. et al. A novel quantitative EEG injury measure of global cerebral ischemia. *Clinical Neurophysiology*. 2000;10(111):1779–1787.
6. Campi C.C., Geoffrey D.C. Effects of highly selective κ -opioid agonists on EEG power spectra and behavioural correlates in conscious rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1995;4(51):611–616.
7. Ding Xianchao, Yi Luo, Lei Shi, Chang Liu, Zhixin Yan. Butorphanol in combination with dexmedetomidine provides efficient pain management in adult burn patients. *Burns*. 2021;7(47):1594–1601.
8. Lemmens H.J.M., Egan T.D., Fiset P., Stanski D.R. Pharmacokinetic/dynamic assessment in drug development: application to the investigational opioid mirfentanil. *Anesthesia & Analgesia*. 1995;6(80):1206–1211.
9. Tortella F.C., J. Rose, L. Robles et al. EEG Spectral Analysis of the Neuroprotective KappaOpioids Enadoline and PD117302. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997;1(282):286–293.
10. Litvinova S.A., Kutepova I.S., Voronina T.A., Petrunina A.A. Levetiracetam effect on behavioral and electrophysiological parameters in rat model of global brain ischemia. *Epilepsy Research*. 2020;167:106466.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Константин Юрьевич Калитин – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет; научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии, Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0079-853X>, kconst8@ya.ru

Глеб Васильевич Придворов – аспирант кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет; младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии, Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8070-693X>, gleb.pridvorov@gmail.com

Александр Алексеевич Спасов – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН; заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет; заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии, Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>, aaspasov@volgmed.ru

Ольга Юрьевна Муха – студентка, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0429-905X>, olay.myha14@gmail.com

Статья поступила в редакцию 26.04.2022; одобрена после рецензирования 30.06.2022; принята к публикации 23.08.2022.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

Konstantin Yu. Kalitin – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University; Researcher at the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0079-853X>, kconst8@ya.ru

Gleb V. Pridvorov – Postgraduate Student of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University; Junior Researcher at the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8070-693X>, gleb.pridvorov@gmail.com

Alexander A. Spasov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Head of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University; Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>, aaspasov@volgmed.ru

Olga Yu. Mukha – student, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0429-905X>, olay.myha14@gmail.com

The article was submitted 26.04.2022; approved after reviewing 30.06.2022; accepted for publication 23.08.2022.