

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕПТИДА КК1 ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОТДАЛЕННЫХ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОКСИДОМ УГЛЕРОДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 615.279

© П. Г. Толкач¹, В. А. Башарин¹, А. Н. Гребенюк¹, А. А. Колобов²¹ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;²Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург

Ключевые слова:

оксид углерода; нейротоксичность; когнитивные нарушения; кислород; синтетический тетрапептид КК1.

Резюме

Интоксикация оксидом углерода (СО) приводит к развитию как ранних, так и отдаленных нарушений функций центральной нервной системы (ЦНС). Антидотом, применяемым при отравлении СО, является кислород. Согласно данным литературы, одной из групп препаратов, способствующих профилактике поражений ЦНС, могут быть синтетические аналоги эндогенных пептидов, одним из которых является структурный аналог первичной последовательности фрагмента адренокортикотропного гормона (Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide) — синтетический тетрапептид КК1. В данном исследовании проведена оценка эффективности синтетического тетрапептида КК1 для профилактики нарушений функций ЦНС после острого тяжелого отравления монооксидом углерода.

ВВЕДЕНИЕ

Интоксикация оксидом углерода является основной причиной гибели людей от отравлений в мире [8]. Признаками острого отравления СО являются головная боль, тошнота, диспноэ, угнетение сознания вплоть до комы, нарушение витальных функций. Вслед за острым периодом интоксикации СО, после асимптоматического периода, который может длиться от 2 до 40 дней, у 10–40% пострадавших проявляются отдаленные нарушения функций ЦНС. Они проявляются в виде нарушений когнитивных функций, деменции, психоза, синдрома паркинсонизма, эмоциональной лабильности и др. [5, 18]. Механизм развития отдаленных неврологических нарушений может включать в себя гипоксию, повреждение митохондрий, угнетение антирадикальной защиты клетки и развитие оксидативного стресса, запуск механизмов апоптоза, нарушение холинергической трансмиссии и др. [11, 14].

В настоящее время антидотом, применяемым при отравлении СО, является кислород. Механизм его действия основан на ускорении диссоциа-

ции карбоксигемоглобина и скорейшей элиминации СО из организма. Однако применение кислорода не может в полной мере устранить другие нейротоксические механизмы действия СО [10].

В последнее десятилетие активно изучаются пептидные средства, обладающие нейропротективным механизмом действия. Возможные механизмы их нейропротективного действия могут быть связаны с процессами активации вторичных мессенджеров, модуляцией холинергической передачи, усилением длительной потенциации в синапсах гиппокампа и миндалевидного тела и др. [7]. Одним из таких препаратов является синтетический тетрапептид КК1, обладающий церебропротективными и антиамнестическими свойствами, являющийся структурным аналогом первичной последовательности фрагмента адренокортикотропного гормона (Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide) [6].

Целью настоящего исследования была оценка эффективности применения синтетического тетрапептида КК1 в качестве средства профилактики отдаленных нарушений функций ЦНС после тяжелой интоксикации оксидом углерода.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на лабораторных белых беспородных крысах-самцах (n=100) массой 180–220 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме, свободном доступе к воде. Эксперименты проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики работы с животными (Приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003).

Моделирование тяжелого отравления монооксидом углерода осуществляли статическим методом с использованием герметичной затравочной камеры объемом 0,1 м³. Оксид углерода получали химическим способом путем реакции муравьиной и серной кислоты при нагревании в аппарате Киппа. Для моделирования тяжелой степени интоксикации использовали концентрацию СО, равную 5200±120 ppm, экспозиция составила 30 мин. Концентрацию СО в затравочной камере контролировали с помощью газоанализатора ДАХ-М-03-СО-1500 (Россия).

Перед началом эксперимента животные были разделены на четыре группы. В первой группе находились интактные животные (биологический контроль, не подвергавшийся никаким воздействиям), во второй группе (контрольной) — животные, подвергшиеся воздействию CO, в третьей группе (кислород) — животные, подвергшиеся воздействию CO и получавшие ингаляцию кислорода, в четвертой группе (кислород + КК1) — животные, подвергшиеся воздействию CO и получавшие ингаляцию кислорода и синтетический тетрапептид КК1.

Ингаляция 30% кислорода осуществлялась однократно под обычным давлением в течение 30 мин сразу после извлечения лабораторных животных из затравочной камеры. Пептид КК1 вводили интраназально в дозе 40 мкг/кг, оптимальной для проявления его нейротропной активности [6]. Животным первой, второй и третьей групп вводили интраназально физиологический раствор в равных объемах с четвертой группой. Пептид КК1 вводили животным четвертой группы в течение четырех суток после воздействия CO, первое введение осуществляли через 30 мин после отравления.

Наблюдение за животными проводили до воздействия CO и в течение 21 сут после интоксикации. Для оценки неврологического статуса при интоксикации у животных исследовали следующие показатели: двигательную активность, положение тела и судорожную активность. Состояние функций ЦНС у лабораторных животных оценивали при помощи выработки условного рефлекса поиска пищи (УРПП) в установке «Восьмилучевой радиальный лабиринт» и выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) плаванием.

Выработка УРПП у животных позволяла оценивать пространственную референтную и рабочую память. Животных, находящихся в состоянии частичной пищевой депривации, предварительно обучали находить пищу в лучах лабиринта в течение 5 сут. Непосредственно перед воздействием оксида углерода проводили контрольное тестирование. После интоксикации крыс повторно тестировали в тех же условиях на 1, 7, 14 и 21-е сут после воздействия CO. В каждом сеансе оценивали число ошибок референтной памяти (заходы в неподкрепленные лучи) и число ошибок рабочей памяти (повторные заходы в уже посещенные лучи в течение одного сеанса). Увеличение ошибок референтной памяти расценивали как нарушение долговременной памяти, увеличение количества ошибок рабочей памяти — как нарушение кратковременной памяти [13].

Для оценки обучаемости лабораторных животных после интоксикации CO вырабатывали УРАИ плаванием. Выработку УРАИ плаванием начинали с 7-х сут после отравления CO в течение 5 дней. Оценивали время выхода животных из воды на стержень (латентный период). Для определения степени нарушения обучаемости животных после острого от-

равления сравнивали время активного избегания плаванием между группами в течение периода обучения [1].

В отдельной серии экспериментов определяли содержание карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных гидросульфитным методом на спектрофотометре Lange DR 2800 [3].

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики, определяли среднее значение и стандартную ошибку. Проверку нормальности распределения выполняли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Значимости различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для определения среднесмертельной концентрации (LC_{50}) оксида углерода использовали экспресс метод В. Б. Прозоровского [4]. По данным предварительных токсикологических исследований при экспозиции 30 мин LC_{50} составила 8440 ± 840 ppm. В дальнейших экспериментах для оценки состояния ЦНС у отравленных оксидом углерода животных использовали концентрацию 5200 ± 120 ppm, так как затравка в данных условиях позволяла моделировать тяжелую степень интоксикации CO. После начала воздействия CO у животных отмечалось снижение двигательной активности, развивалось боковое положение на $6,7 \pm 0,16$ мин интоксикации, появлялись локальные миофасцикуляции, переходящие в генерализованные клонические судороги. Летальность животных во время острой ингаляционной затравки CO в концентрации 5200 ± 120 ppm составила 16,5%. В течение дальнейшего периода наблюдения за животными летальных исходов не было.

Содержание карбоксигемоглобина в крови крыс сразу после их извлечения из камеры составляло $75,9 \pm 2,1$ %. Через 60 мин после окончания воздействия CO концентрация карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных контрольной группы была статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем в группе получавшей кислород ($32,80 \pm 0,75$ и $28,50 \pm 0,98$ % соответственно).

После окончания воздействия CO и извлечения животных из затравочной камеры время выхода животных контрольной группы из бокового положения составило $7,7 \pm 0,53$ мин, что статистически значимо ($p < 0,05$) больше, чем в группе животных, получавшей кислород ($6,10 \pm 0,41$ мин). Двигательная активность полностью восстанавливалась через 185 ± 24 мин после окончания воздействия CO.

Влияние интоксикации оксидом углерода на память оценивали по сохранности воспроизведения УРПП у предварительно обученных животных в установке «Восьмилучевой радиальный лабиринт». При контрольном тестировании, непосредственно

перед затравкой, было установлено, что количество ошибок референтной и рабочей памяти в группах статистически значимо не различалось.

Ошибками референтной памяти считались заходы животных в неподкрепленные лучи. Так, в группе животных, получавших кислород на 7-е и 14-е сут после воздействия СО число ошибок референтной памяти было достоверно больше, чем у животных интактной группы (табл. 1). В группе животных, получавших в качестве лечения кислород и синтетический тетрапептид КК1, отмечалось увеличение количества ошибок референтной памяти на 1-е сут после воздействия СО ($p < 0,05$), в то время как на 7, 14 и 21-е сут после воздействия СО число ошибок референтной памяти значимо не отличалось от интактной группы, но статистически значимо ($p < 0,05$) отличалось от контрольной группы.

Ошибками рабочей памяти считались повторные заходы в уже посещенные лучи в течение одного сеанса. В группе животных, получавших кислород на 1, 7 и 14-е сут после воздействия оксида углерода, отмечалось увеличение числа ошибок рабочей памяти в сравнении с интактными животными (табл. 2). В группе животных, получавших после кислорода препарат КК1, отмечалась тенденция к уменьшению количества ошибок рабочей памяти

на 7, 14 и 21-е сут после воздействия СО в сравнении с контрольной группой (табл. 2).

Таким образом, выявлено, что воздействие СО приводит к нарушению воспроизведения УРПП как в раннем, так и в отдаленном периоде интоксикации. Однократное лечебное применение нормобарического кислорода не приводило к восстановлению долговременной и кратковременной памяти в течение всего периода наблюдения за животными. Лечебное применение пептида КК1 на фоне кислородотерапии, приводило к достоверному восстановлению долговременной памяти на 7, 14 и 21-е сут после интоксикации, также отмечалась тенденция к восстановлению кратковременной памяти.

Влияние СО на обучаемость отравленных крыс оценивали путем выработки УРАИ плаванием. В группе животных, получавших кислород, статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение длительности латентного периода активного избегания плаванием отмечалось на 9-е сут после воздействия СО в сравнении с интактной группой. В группе животных, получавших пептид КК1, наблюдалась тенденция к уменьшению длительности латентного периода начиная с четвертого сеанса выработки УРАИ плаванием (табл. 3).

■ **Таблица 1. Число ошибок референтной памяти, оцененных в установке «Восьмилучевой радиальный лабиринт» у предварительно обученных крыс после воздействия оксида углерода в концентрации 5200 ppm ($M \pm m$)**

Показатель (ошибки)	Группы животных (n = 10)	Исходный уровень перед воздействием СО	Сроки после воздействия СО, сут			
			1-е	7-е	14-е	21-е
Референтной памяти	Интакные	0,40 ± 0,16	0,40 ± 0,16	0,20 ± 0,19	0,10 ± 0,11	0,40 ± 0,24
	Контроль	0,40 ± 0,24	2,20 ± 0,28*	2,20 ± 0,43*	1,60 ± 0,38*	2,10 ± 0,41*
	Кислород	0,20 ± 0,15	1,10 ± 0,35#	2,10 ± 0,51*	1,40 ± 0,29*	0,30 ± 0,26#
	Кислород + КК1	0,20 ± 0,17	1,20 ± 0,22*#	0,80 ± 0,28#	0,30 ± 0,26#	0,20 ± 0,15#

* — различия значимы по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,05$); # — различия значимы по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$)

■ **Таблица 2. Число ошибок рабочей памяти, оцененных в установке «Восьмилучевой радиальный лабиринт» у предварительно обученных крыс после воздействия оксида углерода в концентрации 5200 ppm ($M \pm m$)**

Показатель (ошибки)	Группы животных (n = 10)	Исходный уровень перед воздействием СО	Сроки после воздействия СО, сут			
			1-е	7-е	14-е	21-е
Рабочей памяти	Интакные	0,20 ± 0,13	0,20 ± 0,13	0,20 ± 0,2	0,10 ± 0,11	0,20 ± 0,15
	Контроль	0,10 ± 0,11	1,10 ± 0,39*	1,00 ± 0,33*	0,80 ± 0,41	0,80 ± 0,29
	Кислород	0,20 ± 0,22	0,90 ± 0,35	0,80 ± 0,36	0,60 ± 0,29	0,30 ± 0,25
	Кислород + КК1	0,40 ± 0,24	0,90 ± 0,39	0,20 ± 0,16	0,10 ± 0,13	0,21 ± 0,15

* — различия значимы по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,05$)

■ **Таблица 3. Изменение времени условного рефлекса активного избегания плаванием у животных, обучавшихся с 7-х суток после воздействия оксида углерода в концентрации 5200 ppm, ($M \pm m$)**

Группы животных (n = 10)	Сроки после воздействия СО, сут				
	7-е	8-е	9-е	10-е	11-е
Интакные	42,70 ± 16,94	7,30 ± 2,47	2,10 ± 0,47	2,10 ± 0,53	2,40 ± 0,37
Контроль	49,10 ± 6,88	19,40 ± 5,71	7,30 ± 2,21*	5,10 ± 1,71	4,70 ± 1,67
Кислород	51,70 ± 10,9	9,70 ± 3,16	6,10 ± 1,48*	6,90 ± 2,97	4,20 ± 1,41
Кислород + КК1	35,60 ± 4,39	15,10 ± 2,92	6,90 ± 2,28	3,60 ± 0,98	1,70 ± 0,16

* — различия значимы по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,05$)

Полученные данные показывают, что интоксикация СО приводит к значимому ухудшению выработки УРАИ плаванием в отдаленном периоде после тяжелого отравления СО. Однократное лечебное применение нормобарического кислорода не позволяет нормализовать обучаемость лабораторных животных, в то же время в группе животных, получавших, наряду с кислородом, препарат КК1, отмечалась положительная динамика восстановления обучаемости лабораторных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенного исследования показано, что тяжелая интоксикация СО приводит к развитию как ранних, так и отдаленных нарушений функций ЦНС. Так, на протяжении всего периода наблюдения за животными после воздействия СО отмечалось нарушение воспроизведения УРПП, что проявлялось в виде увеличения количества ошибок референтной и рабочей памяти (табл. 1 и 2). Согласно данным литературы, пространственную референтную и рабочую память можно ассоциировать с долговременной и кратковременной памятью человека [13], поэтому полученные в исследовании результаты изменения воспроизведения УРПП можно трактовать как нарушения памяти, развивающиеся после интоксикации СО. Также установлено, что тяжелое отравление СО приводит к нарушению обучаемости. Так, в контрольной группе животных на 9-е сут после воздействия СО отмечалось статистически значимое увеличение длительности латентного периода активного избегания плаванием в сравнении с интактной группой, что можно объяснить как нарушение обучаемости [1].

Ранние нарушения (на 1-е сут после воздействия СО) могут быть обусловлены гипоксией, нарушением образования энергии в митохондриях и метаболическим ацидозом [9]. Механизм, с помощью которого СО вызывает отдаленные повреждения, может быть связан с увеличением содержания возбуждающих аминокислот, развитием оксидативного стресса [15], взаимодействием с растворимой гуанилатциклазой и нарушением вторичной трансдукции внутриклеточного сигнала [12], нарушением холинергической передачи [14] и др.

В нашем исследовании лечебное применение кислорода приводило к значимому снижению уровня карбоксигемоглобина в крови лабораторных животных через 60 мин после интоксикации, что сопровождалось укорочением времени выхода животных из бокового положения. Лечебное применение кислорода вызывало более быстрое восстановление животных после интоксикации в основном за счет скорейшей элиминации СО из организма. Однако этот механизм не может предотвратить развитие отдаленных неврологических нарушений, развивающихся после тяжелой интоксикации СО, что

было установлено при оценке когнитивных функций (нарушения памяти и обучаемости) у отравленных животных. Полученные экспериментальные данные согласуются с результатами клинических наблюдений за пациентами, подвергшимися тяжелому отравлению оксидом углерода, получавшими в качестве лечения ингаляцию нормобарического кислорода [19].

Лечебное применение синтетического тетрапептида КК1 в комбинации с кислородом приводило к достоверному восстановлению долговременной памяти на 7, 14 и 21-е сут после острой интоксикации. Кроме того, отмечалась тенденция к восстановлению кратковременной памяти. Нарушение воспроизведения УРПП на первые сутки после воздействия СО в группе животных, получавших пептид КК1, по-видимому, связано с тем, что максимум активности пептида приходится на конец 2-х сут после начала его применения [2]. При оценке длительности латентного периода активного избегания плаванием эффективность применения пептида КК1 отмечается на 4 и 5-й сеанс обучения.

Церебропротективный эффект препарата КК1 может быть объяснен наличием у него антиапоптотической активности, наличием нейротрофического компонента, способностью к нормализации уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 β и TNF- α) и повышения содержания противовоспалительного интерлейкина-4 в головном мозге [6]. Антиамнестический эффект синтетического тетрапептида КК1 вероятно определяется его стимулирующим влиянием на холинергические процессы в головном мозге [6], которые тесно связаны с процессами памяти и обучаемости [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что тяжелая интоксикация СО приводит к развитию как ранних, так и отдаленных нарушений функций ЦНС. Однократное лечебное применение нормобарического кислорода способствует более быстрому регрессу острых признаков интоксикации, однако не предотвращает развитие ранних и отдаленных нарушений функций ЦНС. Лечебное применение комбинации кислорода с препаратом пептидной природы КК1, гомологичным по первичной последовательности фрагменту адренокортикотропного гормона, предотвращает развитие нарушений когнитивных функций в отдаленном периоде интоксикации оксидом углерода. Таким образом, применение синтетического пептида КК1 в комбинации с кислородом может рассматриваться как один из перспективных подходов к предотвращению отдаленных нарушений функций центральной нервной системы после острой тяжелой интоксикации оксидом углерода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: пер. с англ. Е.Н. Живописцевой / Под ред. А.С. Батуева. М.: Высшая школа, 1991. — 400 с.
2. Дейко Р.Д., Штрыголь С.Ю., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Церебропротективные свойства оригинальных пептидов, гомологичных первичной последовательности участка АКГГ₁₅₋₁₈ (экспериментальное исследование). Цитокины и воспаление. 2015; 14 (1): 27–30.
3. Методические указания о количественном определении карбоксигемоглобина и карбоксимиоглобина. М.: МЗ СССР, 1974. — 16 с.
4. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. Психофармакол. и биол. наркол. 2007; 7 (3–4): 2090–2120.
5. Софронов Г.А., Черный В.С., Александров М.В. Качество жизни лиц, перенесших острые отравления продуктами горения. Вестн. Рос. воен.-мед. acad. 2012; 2(38): 6–10.
6. Тетрапептид и средство, обладающее церебропротекторной и антиамнестической активностью (варианты). Патент РФ № 2537560 от 27.10.2014. — БИ № 30. — 13 с.
7. Borbely E., Scheich B., Helyes Z. Neuropeptides in learning and memory. Neuropeptides. 2013; 47: 439–50.
8. Braubach M., Algoet A., Beaton M. [et al] Mortality associated with exposure to carbon monoxide in WHO European member states. Indoor Air. 2013; 23: 115–25.
9. Heung M. L., Lance M. H., George H. J. Differential inhibition of mitochondrial respiratory complexes by inhalation of combustion smoke and carbon monoxide, in vivo, in the rat brain. Inhal. Toxicol. 2010; 22 (9): 770–7.
10. Juric D. M., FINDERLE Z., SUPUT D. et al. The effectiveness of oxygen therapy in carbon monoxide poisoning is pressure- and time-dependent: A study on cultured astrocytes. Toxicol. Lett. 2015; 233 (1): 16–23.
11. Lindell K., Weaver L. K. Clinical practice. Carbon monoxide poisoning. N. Engl. J. Med. 2009; 360 (12): 1217–25.
12. Mariluz H.V., Castoldy A.F., Cocini T. In vivo exposure to carbon monoxide causes delayed impairment of activation of soluble guanylatecyclase by nitric oxide in rat brain cortex and cerebellum. J. Neurochem. 2004; 89 (5): 1157–65.
13. Morellini F. Spatial memory tasks in rodents: what do they model? Cell Tissue Res. 2013; 34: 273–86.
14. Ochi S., Abe M., Li C. et al. The nicotinic cholinergic system is affected in rats with delayed carbon monoxide encephalopathy. Neurosci Lett. 2014; 569: 33–7.
15. Piantadosi C. A., Zhang J., Levin E. D. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. Experimental Neurology. 1997; 147 (1): 103–14.
16. Picciotto, M. R., Zoli M., Lena C. et al. Abnormal avoidance learning in mice lacking functional high-affinity nicotine receptor in the brain. Nature. 1995; 374 (6517): 65–7.
17. Roozendaal B., Schelling G., McGaugh J. L. Corticotropin-releasing factor in the basolateral amygdala enhances memory consolidation via an interaction with the β -adrenoceptor-cAMP pathway: dependence on glucocorticoid receptor activation. J. Neurosci. 2008; 28 (26): 6642–51.
18. Sungho O. Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. Neural Regen. Res. 2015; 10 (1): 36–8.
19. Weaver L. K., Hopkins R. O., Chan K. J. et al. Hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning. N. Engl. J. Med. 2002; 347 (14): 1057–67.

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE KK1 PEPTIDE EFFECTIVENESS FOR PREVENTION OF THE CNS DELAYED IMPAIRMENTS AFTER ACUTE INTOXICATION WITH CARBON MONOXIDE

P. G. Tolkach, V. A. Basharin, A. N. Grebenyuk, A. A. Kolobov

◆ **Summary:** Intoxication with the carbon monoxide leads to the development the early and delayed neuropsychological impairments. Oxygen therapy is used usually as an antidote for the treatment of acute carbon monoxide poisoning. The synthetic analogues of endogenous peptides were shown to prevent the neuropsychological impairments. One of them is KK1, a tetrapeptide acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide, assessed as a structural analogue of corticotropine. The efficiency of the synthetic tetrapeptide KK1 for the prevention of the CNS delayed impairments after acute carbon monoxide poisoning has been evaluated in this study.

◆ **Keywords:** carbon monoxide; neurotoxicity; cognitive impairments; oxygen; synthetic tetrapeptide KK1.

REFERENCES

1. Buresh Ya., Bureshova O., Kh'yuston D.P. Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and main experiments in the brain study]: per. s angl. E. N. Zhivopistsevoy / Pod red. A. S. Balueva. M.: Vysshaya shkola, 1991. — 400 s.
2. Deyko R.D., Shtrygol' S.Yu., Kolobov A.A., Simbirtsev A.S. Tserebroprotektivnye svoystva original'nykh peptidov, gomologichnykh pervichnoy posledovatel'nosti uchastka AKTG₁₅₋₁₈ (eksperimental'noy issledovaniye) [Zerebroproteguoe properties of the original peptides, homologous to the primary sequence of the region AKTG₁₅₋₁₈ (pilot study)]. Tsitokiny i vospalenie. 2015; 14 (1): 27–30.
3. Metodicheskie ukazaniya o kolichestvennom opredelenii karboksigemoglobina i karboksimioglobina [Methodical instructions on quantitative determination of carboxyhemoglobin and carboxymyoglobin]. M.: MZ SSSR, 1974. — 16 s.
4. Prozorovskiy V.B. Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovaniy [Statistical processing of the results of pharmacological research]. Psikhofarmakol. i biol. narkol. 2007; 7 (3–4): 2090–2120.
5. Sofronov G.A., Chernyy V.S., Aleksandrov M.V. Kachestvo zhizni lits, perenesshikh ostrye otravleniya produktami goreniya [The quality of life of people suffering from acute poisoning by combustion products]. Vestn. Ros. voen.-med. acad. 2012; 2(38): 6–10.
6. Tetrapepid i sredstvo, obladayushchee tserebroprotektornoy i antiamnesticheskoy aktivnost'yu (varianty) [A tetrapeptide and a means of having cerebroprotective and antiamnesticescoe activity (options)]. Patent RF N 2537560 ot 27.10.2014. — BI N 30. — 13 s.
7. Borbely E., Scheich B., Helyes Z. Neuropeptides in learning and memory. Neuropeptides. 2013; 47: 439–50.
8. Braubach M., Algoet A., Beaton M. [et al] Mortality associated with exposure to carbon monoxide in WHO European member states. Indoor Air. 2013; 23: 115–25.
9. Heung M. L., Lance M. H., George H. J. Differential inhibition of mitochondrial respiratory complexes by inhalation of combustion smoke and carbon monoxide, in vivo, in the rat brain. Inhal. Toxicol. 2010; 22 (9): 770–7.
10. Juric D. M., FINDERLE Z., SUPUT D. et al. The effectiveness of oxygen therapy in carbon monoxide poisoning is pressure- and time-dependent: A study on cultured astrocytes. Toxicol. Lett. 2015; 233 (1): 16–23.

11. Lindell K., Weaver L. K. Clinical practice. Carbon monoxide poisoning. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360 (12): 1217–25.
12. Mariluz H. V., Castoldy A. F., Cocini T. In vivo exposure to carbon monoxide causes delayed impairment of activation of soluble guanylatecyclase by nitric oxide in rat brain cortex and cerebellum. *J. Neurochem.* 2004; 89 (5): 1157–65.
13. Morellini F. Spatial memory tasks in rodents: what do they model? *Cell Tissue Res.* 2013; 34: 273–86.
14. Ochi S., Abe M., Li C. et al. The nicotinic cholinergic system is affected in rats with delayed carbon monoxide encephalopathy. *Neurosci Lett.* 2014; 569: 33–7.
15. Piantadosi C. A., Zhang J., Levin E. D. et al. Apoptosis and delayed neuronal damage after carbon monoxide poisoning in the rat. *Experimental Neurology.* 1997; 147 (1): 103–14.
16. Picciotto, M. R., Zoli M., Lena C. et al. Abnormal avoidance learning in mice lacking functional high-affinity nicotine receptor in the brain. *Nature.* 1995; 374 (6517): 65–7.
17. Roozendaal B., Schelling G., McGaugh J. L. Corticotropin-releasing factor in the basolateral amygdala enhances memory consolidation via an interaction with the β -adrenoceptor-cAMP pathway: dependence on glucocorticoid receptor activation. *J. Neurosci.* 2008; 28 (26): 6642–51.
18. Sungho O. Choi S. Acute carbon monoxide poisoning and delayed neurological sequelae: a potential neuroprotection bundle therapy. *Neural Regen. Res.* 2015; 10 (1): 36–8.
19. Weaver L. K., Hopkins R. O., Chan K. J. et al. Hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347 (14): 1057–67.

◆ Информация об авторах

Толкач Павел Геннадиевич — адъюнкт кафедры военной токсикологии и медицинской защиты. ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6. E-mail: basharin1@mail.ru.

Башарин Вадим Александрович — д. м. н., начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты. ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6. E-mail: basharin1@mail.ru.

Гребенюк Александр Николаевич — д. м. н., профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты. ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6.

Колобов Александр Александрович — к. хим. н., д. б. н., заведующий лабораторией. «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России. 197110, Санкт-Петербург, ул. Пудожская, д. 7.

Tolkach Pavel Gennadievich — Post Graduate Student, Dept. of Military Toxicology and Medical Defense. S. M. Kirov Military Medical Academy. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6, Russia. E-mail: basharin1@mail.ru.

Basharin Vadim Alexandrovich — Dr. Sci. (Toxicology), Chief, Dept. of Military Toxicology and Medical Defense. S. M. Kirov Military Medical Academy. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6, Russia. E-mail: basharin1@mail.ru.

Grebnyuk Alexandre Nikolayevich — Dr. Sci. (Toxicology), Professor, Dept. of Military Toxicology and Medical Defense. S. M. Kirov Military Medical Academy. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6, Russia.

Kolobov Alexandre Alexandrovich — Dr. Sci. (Biology), Chief of the Laboratory. State Research Institute of Superpure Biopreparations. 197110, St. Petersburg, Pudozhskaya St., 7, Russia.