

Влияние ксенона на активность гликоген-синтазы киназы-3β в перифокальной зоне ишемического инсульта (экспериментальное исследование)

А. В. Ершов^{1,2*}, И. А. Крюков^{1,3}, В. В. Антонова¹, А. А. Баева¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР, Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Россия, 127994, ГСП-4, г. Москва, Рахмановский пер., д. 3.

³ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, д. 1

Для цитирования: А. В. Ершов, И. А. Крюков, В. В. Антонова, А. А. Баева. Влияние ксенона на активность гликоген-синтазы киназы-3β в перифокальной зоне ишемического инсульта. *Общая реаниматология*. 2023; 19 (2): 60–67. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2023-2-2274> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Антон Валерьевич Ершов, salavatprof@mail.ru

Резюме

Цель исследования — определить влияние различной экспозиции 0,5 МАК ксенона на содержание и фосфорилирование (инактивирование) фермента гликоген-синтазы киназы-3β в перифокальной зоне ишемического инсульта в эксперименте.

Материалы и методы. Ишемию/реперфузию головного мозга моделировали на 39 крысах массой 300–350 г по методу Лонга. В контрольной группе подавали кислородно-воздушную смесь, а в группах исследования — ксенон 0,5 МАК при экспозиции 30, 60 и 120 мин. В группу сравнения включили ложнооперированных животных. Сигнальную киназу определяли в гомогенатах методом вестерн-блоттинга с антителами против тотальной гликоген-синтазы киназы-3β и против фосфо-гликоген-синтазы киназы-3β на блоттинг-панелях с помощью спектрофотометра.

Результаты. При ишемическом инсульте у контрольных животных статистически значимо не изменялось содержание гликоген-синтазы киназы-3β, но происходило выраженное снижение содержания ее фосфорилированной формы в перифокальной зоне ишемического инсульта (в 2,7 раза, $p < 0,001$). Ингаляция ксенона 0,5 МАК при экспозиции 30 минут не приводила к увеличению фосфорилирования фермента гликоген-синтазы киназы-3β ($p = 0,9$), однако при экспозиции 60 и 120 мин наблюдали увеличение фосфорилирования в 2,1 ($p = 0,005$) и 2,3 раза ($p = 0,001$) по сравнению с контролем, соответственно.

Заключение. Полученные результаты раскрывают возможный молекулярный механизм (за счет инактивации ГСК-3β, реализации нейропротективного и противовоспалительного эффектов ксенона) и показывают перспективы применения 0,5 МАК ксенона в экспозиции 60 и 120 мин при ишемическом повреждении мозга в результате инсульта, черепно-мозговой травмы и других причин.

Ключевые слова: гликоген-синтаза; киназа-3β; инсульт; ишемия; ксенон; нейропротекция

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The Effect of Xenon on the Activity of Glycogen Synthase Kinase-3β in the Perifocal Zone of Ischemic Cerebral Infarction (Experimental Study)

Anton V. Ershov^{1,2}, Ivan A. Krukov^{1,3}, Victoria V. Antonova¹, Anastasia A. Baeva¹

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, 25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, 3 Rakhmanovsky Lane, GSP-4, 127994 Moscow, Russia

³ D. Rogachev National Medical Research Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, 1 Samora Mashela Str., GSP-7, 117997 Moscow, Russia

Summary

Aim of the study. To determine the effects of xenon exposure at a dose of 0.5 MAC of different duration on the content and enzyme-inactivating phosphorylation of the glycogen synthase kinase-3β (GSK3β) in the perifocal zone of ischemic cerebral infarction in an experimental setting.

Materials and methods. The Long method was used for modelling brain ischemia/reperfusion in 39 rats weighing 300–350 g. Study group animals was exposed to xenon at a dose of 0.5 MAC during 30, 60 and 120 minutes whereas control group animals received an oxygen-air mixture. Sham-operated animals served as a com-

parison group. The levels of GSK3 β and phospho-GSK3 β in brain homogenates were determined by blotting using specific antibodies.

Results. In ischemic stroke model, the content of GSK3 β did not significantly change in control animals compared to comparison group. However, control group animals exhibited significant (2.7-fold, $P < 0.001$) decrease in the content of its phospho-GSK3 β in the perifocal zone of ischemic cerebral infarction. Inhalation of 0.5 MAC xenon during 30 minutes did not lead to an increase in phosphorylation of the GSK3 β enzyme ($P = 0.9$), however, 60 and 120 minutes of 0.5 MAC xenon exposures resulted in the increase in phosphorylated form of the enzyme by a factor of 2.1 ($P = 0.005$) and 2.3 ($P = 0.001$), respectively, compared to the control group.

Conclusion. The results reveal a possible molecular mechanism (i. e., execution of neuroprotective and anti-inflammatory effects of xenon due to GSK-3 β inactivation) and show the prospects for using 60 and 120 minutes of 0.5 MAC xenon exposures in ischemic brain damage after a stroke, traumatic brain injury and other brain lesions.

Key words: *glycogen synthase; GSK3 β ; brain ischemia model; ischemic stroke; xenon; neuroprotection*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Частота заболеваний головного мозга, по данным Всемирной организации здравоохранения, составляет одну треть от частоты всех заболеваний в развитых странах, а нарушения мозгового кровообращения занимают второе место среди причин смертности в группе заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. Головной мозг является органом, наиболее сильно зависящим от энергетического обмена, обусловленного своевременным поступлением с кровотоком глюкозы и кислорода и идущего по пути, главным образом, аэробного гликолиза. В результате нарушений газообмена или кровоснабжения в головном мозге запускаются нейрометаболические и нейромедиаторные процессы, приводящие к ишемическому повреждению нервной ткани. Сходные патофизиологические реакции могут развиваться в результате черепно-мозговой травмы, сдавления мозга опухолью, а также в результате остановки сердца или оперативного вмешательства [2, 3]. Известно, что ишемическое повреждение мозга является многокомпонентным, одним из ключевых факторов представляется опосредованная NMDA-рецепторами (их гиперактивацией) эксайтотоксичность [4, 5]. Каскад дальнейших запускаемых реакций сложен и не до конца изучен, но, тем не менее, важную роль в нем играет фермент гликоген-синтаза киназа-3 (ГСК-3) [6]. Ее уникальность в регуляции клеточных функций обусловлена влиянием на активность около полусотни белков, а ее активность, в свою очередь, опосредована большим количеством внеклеточных стимулов [7].

Фермент ГСК-3 является серин/треониновой протеазой, обладающей многообразными функциями, включающими участие в делении, пролиферации, дифференциации и адгезии клеток [8]. Нарушения функций ГСК-3 обнаружены при онкологических заболеваниях, сахарном диабете, болезни Альцгеймера и ряде других патологий. Так, например, установлено, что ГСК-3 вместе с фосфодиэстеразой 4 типа

(PDE4) регулирует активность дофаминовых рецепторов 2-го типа, играющих роль в патогенезе шизофрении, кроме того, данная киназа участвует в регуляции настроения и в механизме аффективных расстройств [9]. ГСК-3 у млекопитающих существует в двух изоформах: альфа (α) и бета (β), кодирующихся разными генами. В головном мозге ГСК-3 β обнаружена как в нейронах, так и в глиальных клетках практически во всех его областях. В клетке ГСК-3 находится в основном в цитоплазме, преимущественно в активной форме, однако имеется и в ядрах, и в митохондриях, где ее активность выше. Длительная активация киназы приводит к нейродегенерации [7]. Инактивация ГСК-3 происходит путем ее фосфорилирования под воздействием различных стимулов (например, нейромедиаторов, ростовых факторов, цитокинов и др.) [7, 8]. Базальная активность ГСК-3 β зависит от фосфорилирования по тирозину 216 [10]. Присоединение фосфата в положении серина 9 инактивирует ГСК-3 β , являясь основным механизмом регуляции ее активности [11]. Кроме того, важным путем ингибирования ГСК-3 β в головном мозге является фосфорилирование по серину 389 посредством протеинкиназы p38 [12].

Ферменту ГСК-3 β принадлежит фундаментальная роль в процессах нейропластичности и нейродегенерации. Установлено, что активная ГСК-3 β подавляет аксональный рост. Воздействие ростовых факторов ингибирует данную киназу, что дает возможность синтеза белков цитоскелета и способствует росту и ветвлению аксонов [13]. Активация и блокировка ГСК-3 β в глутаматергических синапсах играет важную роль в синаптической пластичности, лежащей в основе сна, процессов обучения и памяти [14]. Также показано, что ингибирование данной киназы стимулирует выработку шаперонов, являющихся нейропротективными факторами, и блокирует каспазу-3, являющуюся проапоптотическим ферментом, что в целом реализуется как нейропротективный эффект [15].

Кроме того, ГСК-3 β является ключевым ферментом, регулирующим проницаемость митохондриальной поры, открытие которой при ишемии приводит к поступлению воды и растворенных в ней веществ, способствуя набуханию матрикса и разрыву наружной мембраны митохондрий. При этом из межмембранного пространства высвобождается цитохром С, запуская процесс апоптоза и ферроптоза. Фосфорилирование ГСК-3 β снижает ее активность, что препятствует открытию поры и защищает клетку от ишемического повреждения [16, 17].

Помимо нервных клеток, высокий уровень ГСК-3 обнаружен в нейтрофилах, а высокий уровень фосфорилированной ГСК-3 свидетельствует об их активации и участии в воспалительной реакции за счет усиления выработки провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12) и снижения противовоспалительного ИЛ-10 [19–20].

Учитывая огромную роль ГСК-3 β в функционировании клеток и тканей, ее можно рассматривать как перспективную биологическую мишень для фармакотерапии [7]. Созданы синтетические ингибиторы ГСК-3 β , которые демонстрируют антидепрессивное, нормотимическое и нейропротективное действие в экспериментальных исследованиях [21, 22].

По данным литературы, галогенсодержащие анестетики также инактивируют ГСК-3 путем ее фосфорилирования, следствием чего является снижение системной воспалительной реакции за счет ингибирования синтеза провоспалительных цитокинов, активности лейкоцитов и инфильтрации ими тканей, сохранения межклеточных эндотелиальных контактов и целостности эндотелиального барьера, а также снижения клеточного повреждения за счет нормализации уровня ферментов антиоксидантной защиты клетки [23].

Перспективным направлением является изучение возможностей применения инертного газа ксенона для защиты головного мозга при его ишемии в результате инсульта, черепно-мозговой травмы и других причин. Результаты недавних исследований показали, что ксенон в 0,5 МАК при экспозиции 30 мин повышает уровень фосфорилированной ГСК-3 β и таких ферментов антиоксидантной защиты, как каталаза, супероксиддисмутаза, гемоксигеназа в гомогенатах головного мозга крыс, что предполагает новый молекулярный механизм реализации его нейропротекторных свойств [24]. В работе M. Thoresen и соавт. показано снижение объема повреждения и улучшение неврологического исхода после черепно-мозговой травмы в эксперименте после ингаляции ксенона [25]. R. Campos-Pires и соавт. установлено, что ксенон в концентрации 50% способен снизить выра-

женность вторичного повреждения мозга при ишемии [26]. Кроме того, данная концентрация ксенона обладает выраженным анальгетическим действием и успешно используется в виде ингаляций при болевых синдромах после травм и ожогов [27], а также для коррекции посттравматических стрессовых расстройств [28]. Противовоспалительные свойства ксенона подтверждены исследованием на выделенных нейтрофилах, которые увеличивают свою способность к апоптозу под действием газа [29].

Патологический каскад глутаматной эксцитотоксичности реализуется в первые минуты и часы после ишемического повреждения головного мозга. На протяжении первых трех суток в зоне пенумбры происходит апоптоз нейронов и глии, зачастую приводящий впоследствии к развитию постишемической энцефалопатии [30], в связи с чем изучение молекулярных механизмов нейропротекции в данный период и поиск фармакологических средств коррекции является актуальной задачей для анестезиологии и реаниматологии.

Цель исследования — определить влияние различной экспозиции 0,5 МАК ксенона на содержание и фосфорилирование (инактивирование) фермента гликоген-синтазы киназы-3 β в перифокальной зоне ишемического инсульта в эксперименте.

Материал и методы

Эксперименты провели на крысах-самцах линии Wistar массой 300–350 г ($n=49$). Накануне эксперимента животные не получали корм, но имели свободный доступ к воде. Протокол исследования был утвержден Локальным этическим комитетом. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях.

Под внутривентриальной анестезией 12% раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг массой животного выполняли моделирование фокальной ишемии по методу Лонга. После срединного разреза в области шеи и выделения с правой стороны общей сонной артерии ее пережимали сосудистой клипсой и накладывали лигатуру из викрила №3 на внутреннюю сонную артерию. Нейлоновую нить, покрытую силиконом, диаметром 0,25 мм, вводили через отрезок внешней сонной артерии во внутреннюю сонную артерию на глубину 19–21 мм до ее перекрытия и фиксировали на внутренней сонной артерии сосудистой клипсой. Кровоток перекрывали на 60 мин, после этого нить извлекали из сосуда, восстанавливая кровоснабжение в бассейне средней мозговой артерии. Сразу после извлечения нити животных случайным образом делили на 4 группы в соответствии с особенностями послеоперационной ингаляционной терапии:

— контрольная группа ($n=10$) с ишемическим инсультом получала кислородно-воздушную смесь,
— группы исследования — 0,5 МАК ксенона при экспозициях 30 ($n=10$), 60 ($n=9$) и 120 ($n=10$) мин.

Кроме того, группу сравнения составили ложно-оперированные животные ($n=10$), которым проводили анестезию и все этапы операции за исключением перекрытия кровотока и ингаляционной терапии.

На 7-е сут после ишемии проводили эвтаназию (декапитацию под анестезией хлоралгидратом), мозг извлекали и лизировали в горячем буфере (62,5 мМ Tris-HCl, pH 6,8; 2% SDS; 10% глицерина; 50 мМ ДТТ, 0,01% бромфенолового синего) в течение 4 мин при 94°C. Белки разделяли в 12% ПААГ и переносили на PVDF-мембраны (Amersham, США). Далее 5% БСА в буфере ТБСТ (25 мМ Tris pH 7,4, 0,15М NaCl, 0,1% Tween20) блокировали сайты неспецифического связывания. Затем мембраны инкубировали в течение 12 ч при температуре +4°C с антителами в 5% растворе БСА/ТБСТ (антитела против ГСК-3 β и фосфо-ГСК-3 β (к участку, содержащему серин-9) (Cell Signaling, США). Со вторыми антителами (против мышинных или кроличьих иммуноглобулинов, конъюгированных с пероксидазой хрена и разведенных в 5% растворе БСА/ТБСТ) мембраны инкубировали в течение 1 ч. Визуализацию проводили блоттинг-панелью Super-Signal West Pico (ThermoFisher, США) на спектрофотометре Hitachi-557 (Hitachi Ltd., Япония). Для денситометрического анализа использовали программу ImageJ. Содержание ГСК-3 β и фосфорилированной формы ГСК-3 β выражали в условных единицах хемилюминесценции (у. е. л.).

Статистический анализ проводили в программе Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba). Для определения вида распределения признаков использовали критерий Шапиро–Уилка. Учитывая отличие распределения от нормального, для описательной статистики использовали медиану с межквартильным интервалом. Межгрупповые различия показателей в независимых группах оценивали при помощи *H*-критерия Краскела–Уоллиса с апостериорным тестом Данна (для решения проблемы множественной проверки гипотез), для сравнения показателей ГСК-3 β и фосфо-ГСК-3 β в связанных группах применяли тест Уилкоксона. Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При нарушении мозгового кровообращения по ишемическому типу, по данным контролируемых исследований, тромболизис является наиболее эффективным методом лечения, однако с учетом противопоказаний реперфузионная терапия проводится лишь в 10% случаев [31]. В связи с этим, важную роль играет поиск средств нейропротективной терапии, направленной на предотвращение, замедление или прерывание молекулярных и биохимических процессов при

ишемическом повреждении, таких как митохондриальная дисфункция, гипервыработка активных форм кислорода, синтез проапоптотических белков, апоптоз или некроз нейронов [32–36].

Ингаляционные анестетики широко используются в медицинской практике, однако механизмы их анестетического действия, а также эффекты нейропротекции и нейротоксичности при действии на центральную нервную систему остаются не до конца изученными и являются предметом активных исследований [37, 38]. Нейропротективное действие ксенона уже установлено в ряде экспериментальных работ, однако молекулярные механизмы данного феномена находятся на стадии изучения [3]. Показано, что защитные свойства ксенона начинают проявляться при ишемии уже в дозировках прекондиционирования [39, 40], что продемонстрировано в экспериментальной работе на новорожденных крысах, у которых после его ингаляций отмечалось уменьшение зоны ишемического повреждения мозга [41], а также в клинических исследованиях субанестетических доз ксенона в концентрации 50% при перинатальной гипоксии–ишемии [42]. Одним из ключевых ферментов, играющих роль в нейропротекции, может быть ГСК-3 β [7, 8]. Оценка критерия Краскела–Уоллиса показала отсутствие статистически значимых различий ГСК-3 β между всеми исследуемыми группами животных ($p=0,765$).

Таким образом, установили, что ишемический инсульт статистически значимо не влиял на содержание ГСК-3 β : оно увеличилось в перифокальной зоне лишь на 2,3% по сравнению с ложнооперированными животными ($p=0,765$). Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 30 мин после восстановления кровотока в головном мозге также не влияла на содержание ГСК-3 β : оно было на 0,7% выше по сравнению с контролем и на 3% — по сравнению с аналогичным показателем у ложнооперированных животных ($p=0,765$).

Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 60 мин после восстановления кровотока в головном мозге не приводила к снижению ГСК-3 β по сравнению с экспозицией 30 мин, содержание ГСК-3 β оставалось лишь на 0,4% выше по сравнению с контролем и на 1,9% — по сравнению с ложнооперированными животными ($p=0,765$). Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 120 мин не приводила к снижению ГСК-3 β по сравнению с экспозицией 60 мин, по сравнению с контролем и по сравнению с ложнооперированными животными ($p=0,765$). Таким образом, статистически значимых отличий между всеми исследованными группами не выявили, что свидетельствует об

Результаты денситометрического анализа Вестерн-блотов на содержание фермента ГСК-3 и фосфо-ГСК-3 β (у. е. л.) в перифокальной зоне ишемического инсульта под влиянием 0,5 МАК ксенона при раз-ной экспозиции, Me (LQ; HQ).

Группа животных (n, время экспозиции)	Содержание, усл. ед.	
	ГСК-3 β	фосфорилированная ГСК-3 β
Ложнооперированные животные (n=10)	2058917 (1887323; 2587112)	1458767 (1287333; 1785132)
Контрольные (n=10)	2105765 (1907123; 2754439)	540277* (487 337; 685111)
Леченые (n=10, 30 мин)	2121112 (1888543; 2659531)	752112 (598 344; 878444)
Леченые (n=9, 60 мин)	2098155 (1785548; 2444768)	1109375* (998376; 1289335)
Леченые (n=10, 120 мин)	2020334 (1831546; 2567731)	1239325* (989444; 1315128)
H-критерий Краскела–Уоллиса	#p=0,765	*p<0,001

Примечание. p — при сравнении ГСК-3 β и фосфорилированной ГСК-3 β внутри групп.

отсутствии влияния 0,5 МАК ксенона на содержание ГСК-3 β .

Известно, что фосфорилирование ГСК-3 β путем каскада сложных реакций ограничивает воспаление и уменьшает апоптоз нейронов в зоне ишемии [19, 20].

Выявили статистически значимые различия содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в исследуемых группах животных ($p<0,001$, оценка критерия Краскела–Уоллиса).

У ложнооперированных животных содержание фосфорилированной формы ГСК-3 β было на 29,1% ниже по сравнению с ее активной формой (тест Уилкоксона: $p=0,005$). Ишемический инсульт у контрольных животных приводил к выраженному снижению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в перифокальной зоне по сравнению с ложнооперированными животными (в 2,7 раза, тест Данна, $p<0,001$), при этом содержание фосфорилированной ГСК-3 β было на 74,3% ниже по сравнению с ГСК-3 β (тест Уилкоксона: $p=0,005$), все это свидетельствовало об активации фермента в зоне пенумбры.

Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 30 минут после восстановления кровотока в головном мозге не приводила к увеличению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в зоне пенумбры в сравнении с контролем (тест Данна: $p=0,9$), однако оно оставалось на 48,4% ниже, чем у ложнооперированных животных (тест Данна: $p<0,001$). Содержание фосфорилированной ГСК-3 β было на 64,5% ниже по сравнению с ее активной формой (тест Уилкоксона: $p=0,003$). Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 60 минут после восстановления кровотока в головном мозге приводила к увеличению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в зоне пенумбры в 2,1 раза, в сравнении с контролем (тест Данна: $p=0,005$), однако оно не отличалось от данного показателя после экспозиции 30 мин 0,5 МАК ксенона (тест Данна: $p=0,177$), и по сравнению с ложнооперированными животными (тест Данна: $p=0,461$). Содержание фосфорилированной формы ГСК-3 β было на 47,1% ниже активной (тест Уилкоксона: $p=0,008$).

Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 120 мин приводила к увеличению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в перифокальной зоне ишемического инсульта в 2,3 раза по сравнению с контролем (тест Данна: $p=0,001$), однако не приводила к увеличению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β по сравнению с экспозицией 60 мин (тест Данна: $p=0,9$) и по сравнению с ложнооперированными животными (тест Данна: $p=0,9$). Содержание фосфорилированной ГСК-3 β в данной группе было на 38,7% ниже, чем ее активной формы (тест Уилкоксона: $p=0,005$).

Полученные результаты показали, что ишемический инсульт у контрольных животных приводил к выраженному (в 2,7 раза, тест Данна: $p<0,001$) снижению содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β в перифокальной зоне ишемического инсульта, что свидетельствовало о активации фермента в зоне пенумбры и активации нейронального апоптоза. Содержание фосфорилированной ГСК-3 β возрастало при удлинении экспозиции, при этом содержание основной формы ГСК-3 статистически значимо не изменялось. Ингаляция 0,5 МАК ксенона при экспозиции 30 мин не влияла на фосфорилирование (инактивацию) фермента ГСК-3 β , в то время как ингаляция ксенона в течении 60 и 120 мин приводила к увеличению фосфорилирования фермента ГСК-3 β , снижению отношения фосфорилированной и активной форм и, вероятно, торможению апоптоза нейронов в перифокальной зоне ишемического инсульта.

Известно, что в инициации апоптоза могут участвовать цитокины, дериваты NO, гормоны, продукты окисления нуклеиновых кислот и белков [34, 43]. Ключевую роль в первичной нейропротекции в остром периоде инсульта играет устранение эксайтотоксичности [44]. Вторичная нейропротекция включает в себя снижение отсроченной гибели нейронов и уменьшение выраженности отдаленных последствий ишемии: инактивацию NO-синтазы блокаду оксидантного стресса, торможение выработки провоспалительных цитокинов, защиту митохондрий, нормализацию синтеза белков и прерывание цепи реакций нейроапоптоза [45]. В це-

лом, нейропротективная терапия должна быть направлена на сохранение и восстановление как пострадавших нейронов, так и других клеточных популяций, которые могли пострадать при ишемии: макро- и микроглии, эндотелиоцитов и нейтрофилов [44, 46].

По данным W. S. Smith, терапевтическое воздействие ксеноном снижает выраженность периваскулярного воспаления и уменьшает объем инфаркта, что приводит к улучшению неврологического исхода [43]. Отмечено, что ингаляции ксенона разрушают патологические функциональные связи между нейронами и изменяют их метаболизм за счет улучшения микроциркуляции и доставки кислорода [48, 49].

Выявленное увеличение содержания фосфорилированной формы ГСК-3 β подтверждает возможность ее инактивации под действием ксенона. В исследовании А. Н. Кузовлева с соавторами установлено, что ингаляция ксенона в концентрации 50 об.% в течение 30 мин не влияет на содержание фермента ГСК-3 β , но вызывает почти двукратное увеличение его фосфорилированной формы [24]. В работе В. В. Лихванцева и соавт. показано, что увеличение фос-

форирированной ГСК-3 β наблюдается под влиянием севофлурана и десфлурана после моделирования ишемии/реперфузии в эксперименте [23, 37]. В исследовании О. А. Гребенчикова и соавт. показано, что фосфорилирование ГСК-3 β в нейтрофилах приводит к уменьшению экспрессии на их поверхности маркеров дегрануляции CD66b и CD11b [29, 50, 51].

Заключение

Полученные результаты раскрывают возможный молекулярный механизм реализации нейропротективного и противовоспалительного эффекта ксенона в период ишемии/реперфузии головного мозга за счет инактивации ГСК-3 β , что приводит к торможению нейроапоптоза в перифокальной зоне ишемического инсульта путем снижения соотношения фосфорилированной и активной формы фермента. Результаты исследования показывают перспективы клинического применения ксенона в 0,5 МАК при экспозиции 60 и 120 мин при ишемическом и реперфузионном повреждении мозга в результате инсульта, черепно-мозговой травмы и других причин.

Литература

- Kleindorfer D.O., Towfighi A., Chaturvedi S., Cockcroft K.M., Gutierrez J., Lombardi-Hill D., Kamel H. et al. Guideline for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2021; 52 (7): e364-e467. DOI: 10.1161/STR.0000000000000375. PMID: 34024117.
- Бабаева С.М., Полухова Ш.М., Казимова А.У., Алиев С.Г., Таиров И.А. Нейропротекция и лимфоваскулярный компонент при нарушениях мозгового кровообращения. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022; 1 (115) 2: 71–74. [Babayeva S.M., Polukhova Sh.M., Kazimova A.U., Aliyev S.H., Tahirov I.A. Neuroprotection and lymphovascular component in cerebral circulatory disorders. *International Research Journal/ Mezh-dunarodniy Nauchno-Issledovatel'skiy Zhurnal*. 2022; 1 (115) 2: 71–74. (in Russ.)]. DOI: 10.23670/IRJ.2022.115.1.054.
- Гребенчиков О.А., Молчанов И.В., Шпичко А.И., Евсеев А.К., Шабанов А.К., Хусаинов Ш.Ж., Петриков С.С. Нейропротективные свойства ксенона по данным экспериментальных исследований. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020; 9 (1): 85–95. [Grebentchikov O.A., Molchanov I.V., Shpichko A.I., Yevseyev A.K., Shabanov A.K., Khusainov S.Z., Petrikov S.S. Neuroprotective properties of xenon according to experimental studies. *Russian Sklifosovsky Journal «Emergency Medical Care»*. *Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch*. 2020; 9 (1): 85–95. (in Russ.)]. DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-1-85-95.
- Yang Q., Huang Q., Hu Z., Tang X. Potential neuroprotective treatment of stroke: targeting excitotoxicity, oxidative stress and inflammation. *Front Neurosci*. 2019; 13: 1036. DOI: 10.3389/fnins.2019.01036. PMID: 31611768.
- Ladak A.A., Enam S.A., Ibrahim M.T. A Review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg*. 2019; 131: 126–132. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.07.039. PMID: 31301445.
- Kim U.J., Lee B.H., Lee K.H. Neuroprotective effects of a protein tyrosine phosphatase inhibitor against hippocampal excitotoxic injury. *Brain Res*. 2019; 1719: 133–139. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.05.027. PMID: 31128098.
- Иванова С.А., Лосенков И.С., Бохан Н.А. Роль киназы гликогенсинтазы-3 в патогенезе психических расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2014; 114 (6): 93–100. [Ivanova S.A., Losenkov I.S., Bokhan N.A. Role of glycogen synthase kinase-3 in the pathogenesis of mental disorders. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry/ Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2014; 114 (6): 93–100. (In Russ.)]. <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikhiiatrii-im-s-s-korsakova/2014/6/031997-72982014617>.
- Григорьян Г.А. Роль гликоген синтазы киназы-3 в механизмах обучения и памяти. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. 2013; 63 (5): 507–519. [Grigoryan G.A. Role of glycogen synthase kinase-3 in mechanisms of learning and memory. *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity / Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. (in Russ.)]. DOI: 10.7868/s0044467713050043. PMID: 25438579.
- Jope R.S. Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders. *Front Mol Neurosci*. 2011; 4: 16. DOI: 10.3389/fnmol.2011.00016. PMID: 21886606.
- Li X., Jope R.S. Is glycogen synthase kinase-3 a central modulator in mood regulation? *Neuropsychopharmacology*. 2010; 35 (11): 2143–2154. DOI: 10.1038/npp.2010.105. PMID: 20668436.
- Beaulieu J.M., Del'guidice T., Sotnikova T.D., Lemasson M., Gainetdinov R.R. Beyond cAMP: the regulation of Akt and GSK3 by dopamine receptors. *Front Mol Neurosci*. 2011; 4: 38. DOI: 10.3389/fnmol.2011.00038. PMID: 22065948.
- Thornton T.M., Pedraza-Alva G., Deng B., Wood C.D., Aronshatam A., Clements J.L., Sabio G., Davis R.J. et al. Phosphorylation by p38 MAPK as an alternative pathway for GSK3 β inactivation. *Science*. 2008; 320 (5876): 667–670. DOI: 10.1126/science.1156037. PMID: 18451303.
- Kim T.Y., Hur E.-M., Snider W.D., Zhou F.-Q. Role of GSK3 signaling in neuronal morphogenesis. *Front Mol Neurosci*. 2011; 4: 48. DOI: 10.3389/fnmol.2011.00048. PMID: 22131966.
- Brabley C.A., Peineau S., Taghibiglou C., Nicolas C.S., Whitcomb D.J., Bortolotto Z.A., Kaang B.K., Cho K. et al. A pivotal

- role of GSK-3 in synaptic plasticity. *Front Mol Neurosci.* 2012; 5: 13. DOI: 10.3389/fnmol.2012.00013. PMID: 22363262.
15. Li X., Bijur N.G., Jope R.S. Glycogen synthase kinase-3 β , mood stabilizers, and neuroprotection. *Bipolar Disord.* 2002; 4 (2): 137–144. DOI: 10.1034/j.1399-5618.2002.40201.x. PMID: 12071511.
 16. Juhászova M., Wang S., Zorov D.B., Nuss H.B., Gleichmann M., Mattson M.P., Sollott S.J. The identity and regulation of the mitochondrial permeability transition pore where the known meets the unknown. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1123: 197–212. DOI: 10.1196/annals.1420.023. PMID: 18375592.
 17. Zorov D.B., Juhászova M., Yaniv Y., Nuss H.B., Wang S., Sollott S.J. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovascular Research.* 2009; 83 (2): 213–225. DOI: 10.1093/cvr/cvp151. PMID: 19447775.
 18. Borgquist J.D., Quinn M.T., Swain S.D. Adhesion to extracellular matrix proteins modulates bovine neutrophil responses to inflammatory mediators. *J Leukoc Biol.* 2002; 71 (5): 764–774. PMID: 11994500.
 19. Wang H., Kumar A., Lamont R.J., Scott D.A. GSK3 β and the control of infectious bacterial diseases. *Trends Microbiol.* 2014; 22 (4): 208–217. DOI: 10.1016/j.tim.2014.01.009. PMID: 24618402.
 20. Ko R., Lee S.Y. Glycogen synthase kinase 3 β in Toll-like receptor signaling. *BMB Rep.* 2016; 49 (6): 305–310. DOI: 10.5483/BMBRep.2016.49.6.059. PMID: 26996345.
 21. Enman N.M., Unterwald E.M. Inhibition of GSK3 attenuates amphetamine-induced hyperactivity and sensitization in the mouse. *Behav Brain Res.* 2012; 231 (1): 217–225. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.03.027. PMID: 22649795.
 22. Gould T.D., Einat H., Bhat R., Manji H.K. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2004; 7 (4): 387–390. DOI: 10.1017/S1461145704004535. PMID: 15315719.
 23. Pizarro J.G., Yeste-Velasco M., Rimbau V., Casadesus G., Smith M.A., Pallàs M., Folch J. et al. Neuroprotective effects of SB-415286 on hydrogen peroxide-induced cell death in B65 rat neuroblastoma cells and neurons. *Int J Dev Neurosci.* 2008; 26 (3): 269–276. DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2008.02.002. PMID: 18342477.
 24. Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Черпаков Р.А., Скрипкин Ю.В., Борисов К.Ю. Влияние прекоondиционирования десфлураном на содержание фосфорилированной формы гликоген синтетазы-киназы 3 β в эксперименте. *Общая реаниматология.* 2016; 12 (6): 8–15. [Likhvantsev V.V., Grebenchikov O.A., Cherpakov R.A., Skripkin Y.V., Borisov K.Yu. Effect of preconditioning with desflurane on phosphorylated glycogen synthase kinase 3 β contents in an experiment. *General Reanimatology/Obshchaya Reanimatologiya.* 2016; 12 (6): 8–15. (in Russ.). DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-8-15.
 25. Кузовлев А.Н., Шпичко А.И., Рыжков И.А., Гребенчиков О.А., Шабанов А.К., Хусаинов Ш.Ж., Цоколаева З.И., Лобанов А.В. Влияние ксенона на фосфорилирование киназы гликогенсинтетазы-3 β и антиоксидантные ферменты в мозге крыс. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь.* 2020; 9 (4): 564–572. [Kuzovlev A.N., Shpichko A.I., Ryzhkov I.A., Grebenchikov O.A., Shabanov A.K., Khusainov S.Z., Tsokolaeva Z.I. et al. Effect of xenon on the phosphorylation of glycogen synthase kinase 3 β and antioxidant enzymes in rat brain. *Russian Sklifosovsky Journal «Emergency Medical Care». Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch.* 2020; 9 (4): 564–572. (in Russ.). DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-4-564-572.
 26. Thoresen M., Hobbs C.E., Wood T., Chakkarapani E., Dingley J. Cooling combined with immediate or delayed xenon inhalation provides equivalent long-term neuroprotection after neonatal hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009; 29 (4): 707–714. DOI: 10.1038/jcbfm.2008.163. PMID: 19142190.
 27. Campos-Pires R., Armstrong S.P., Sebastiani A., Luh C., Gruss M., Radyushkin K., Hirnet T. et al. Xenon improves neurological outcome and reduces secondary injury following trauma in an *in vivo* model of traumatic brain injury. *Crit Care Med.* 2015; 43 (1): 149–158. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000624. PMID: 25188549.
 28. Генев П.Г., Смирнова О.В., Тимербаев В.Х. Ксенон для послеоперационного обезболивания. А почему бы и нет? *Анестезиология и реаниматология.* 2011; 3: 74–77. [Genov P.G., Smirnova O.V., Timerbaev V.H. Xenon for post-operative analgesia. Why not? *Anesthesiol. Reanimatol/Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2011; 3: 74–77. (in Russ.). eLIBRARY ID: 16501272.
 29. Герасимова Ю.Ю., Ермаков М.А. Нейропротективные эффекты субнаркозных и наркотических концентраций медицинского ксенона. *Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области.* 2017; 3 (3): 21–24. [Gerasimova Y.Y., Ermakov M.A. Neuroprotective effects of sub-narcotic and narcotic concentrations of medical xenon. *Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk region/ Vestnik Soveta Molodykh Uchenykh i Spetsialistov Chelyabinskoy Oblasti.* 2017; 3 (3): 21–24. (in Russ.). eLIBRARY ID: 30672509. UDC: 616.89-008.441.33-085.21. EDN: ZVFJIV.
 30. Гребенчиков О.А., Шабанов А.К., Николаев Л.Л., Шпичко А.И., Братищев И.В., Марченко Л.Ю. Хусаинов Ш.Ж. с соавт. Влияние ксенона на провоспалительную активацию и апоптоз нейтрофилов человека в условиях *ex vivo*. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь.* 2021; 10 (3): 511–520. [Grebenchikov O.A., Shabanov A.K., Nikolaev L.L., Shpichko A.I., Bratishchev I.V., Marchenko L.Yu. Khusainov Sh.Zh. et al. Effect of xenon on proinflammatory activation and apoptosis of human neutrophils under *ex vivo* conditions. *Russian Sklifosovsky Journal «Emergency Medical Care» / Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo «Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch».* 2021; 10 (3): 511–520. (in Russ.). DOI: 10.23934/2223-9022-2021-10-3-511-520.
 31. Laitio R., Maze M. Xenon limits brain damage following cardiac arrest. *Management & Practice.* 2018; 18 (3): 192–195. <https://healthmanagement.org/c/icu/issuearticle/xenon-limits-brain-damage-following-cardiac-arrest>.
 32. Домашенко М.А., Максимова М.Ю., Сергеев Д.В., Пирадов М.А. Цитиколин в лечении ишемических нарушений мозгового кровообращения. *РМЖ.* 2013; 30: 1540. [Domashenko M.A., Maksimova M.Yu., Sergeev D.V., Piradov M.A. Citicoline in the treatment of ischemic cerebral circulatory disorders. *Russian Medical Journal / Rossiyskiy Meditsinskiy Zhurnal.* 2013; 30: 1540. (in Russ.). eLIBRARY ID: 21092041. EDN: RTOMLL.
 33. Ginsberg M.D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology.* 2008; 55 (3): 363–389. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.007. PMID: 18308347.
 34. Беленичев И.Ф., Черный В.И., Нагорная Е.А., Павлов С.В., Черный Т.В., Горчакова Н.А., Бухтиярова Н.В. с соавт. Нейропротекция и нейропластичность. Киев: Полиграф Плюс; 2014: 512. [Belenichev I.F., Cherniy V.I., Nagornaya E.A., Pavlov S.V., Cherniy T.V., Gorchakova N.A., Bukhtiyarova N.V. et al. Neuroprotection and neuroplasticity. Kiev: Polygraph Plus; 2014: 512. (in Russ.). ISBN 978-966-171-899-8.
 35. Chen S.-D., Yang D.-I., Lin T.-K., Shaw F.-Z., Liou C.-W., Chuang Y.-C. Roles of oxidative stress, apoptosis, PGC-1 α and mitochondrial biogenesis in cerebral ischemia. *Int J Mol Sci.* 2011; 12 (10): 7199–7215. DOI: 10.3390/ijms12107199. PMID: 22072942.
 36. Ginsberg M.D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology.* 2008; 55 (3): 363–389. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.007. PMID: 18308347.
 37. Muresanu D.F. Neuroprotection and neuroplasticity — a holistic approach and future perspectives. *J Neurol Sci.* 2007; 257 (1–2): 38–43. DOI: 10.1016/j.jns.2007.01.041. PMID: 17331543.
 38. Лихванцев В.В., Скрипкин Ю.В., Гребенчиков О.А. Изучение клинической значимости анестетического пре-

- кондиционирования (открытая база данных). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (4): 82–85. [Likhvantsev V.V., Skripkin Yu.V., Grebenshchikov O.A. Investigation of the clinical value of anesthetic preconditioning (an openaccess database). *General Reanimatology/Obshchaya Reanimatologiya*. 2014; 10 (4): 82–85. (in Russ.)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-4-82-85.
39. Сабинина Т.С., Багаев В.Г., Алексеев И.Ф. Перспективы применения лечебных свойств ксенона в педиатрии. *Педиатрическая фармакология*. 2018; 15 (5): 390–395. [Sabinina T.S., Bagaev V.G., Alekseev I.F. Prospects for applying xenon curative properties in pediatrics. *Pediatric pharmacology/Pediatricheskaya Farmakologiya*. 2018; 15 (5): 390–395. (in Russ.)]. DOI: 10.15690/pf.v15i5.1961.
 40. Esencan E., Yuksel S., Tosun Y.B., Robinot A., Solaroglu I. Zhang J.H. Xenon in medical area: emphasis on neuroprotection in hypoxia and anesthesia. *Med Gas Res*. 2013; 3 (1): 4. DOI: 10.1186/2045-9912-3-4. PMID: 23369273.
 41. Rizvi M., Jawad N., Li Y., Vizaychipi M.P., Maze M., Ma D. Effect of noble gases on oxygen and glucose deprived injury in human tubular kidney cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010; 235 (7): 886–891. DOI: 10.1258/ebm.2010.009366. PMID: 20472713.
 42. Dingley J., Tooley J., Porter H., Thoresen M. Xenon provides short-term neuroprotection in neonatal rats when administered after hypoxia-ischemia. *Stroke*. 2006; 37 (2): 501–506. DOI: 10.1161/01.STR.0000198867.31134.ac. PMID: 16373643.
 43. Dworschak M. Pharmacologic neuroprotection — is xenon the light at the end of the tunnel? *Crit Care Med*. 2008; 36 (8): 2477–2479. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31818113d2. PMID: 18664813.
 44. Smith W.S. Pathophysiology of focal cerebral ischemia: a therapeutic perspective. *J Vasc Interv Radiol*. 2004; 15 (1 Pt 2): S3–12. DOI: 10.1097/01.rvi.0000108687.75691.0c. PMID: 15101511.
 45. Belov Kirdajova D., Kriska J., Tureckova J., Anderova M. Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity From the Perspective of Glial Cells. *Front Cell Neurosci*. 2020; 14: 51. DOI: 10.3389/fncel.2020.00051. PMID: 32265656.
 46. Yang C., Hawkins K.E., Doré S., Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019; 316 (2): C135–153. DOI: 10.1152/ajpcell.00136.2018. PMID: 30379577.
 47. Буров Н.Е., Потанов В.Н. Ксенон в медицине: очерки по истории и применению медицинского ксенона. М.: Пульс. 2012: 406. [Burov N.E., Potapov V.N. Xenon in medicine: essays on the history and application of medical xenon. M.: Pulse. 2012: 406. (in Russ.)]. ISBN: 978-5-93486-066-1.
 48. Старостин Д.О., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Долгих В.Т. Влияние севофлурана на активацию нейтрофилов человека в моделях *ex vivo*. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2022; 19 (1): 32–39. [Starostin D.O., Kuzovlev A.N., Grebenshchikov O.A., Dolgikh V.T. Effect of sevoflurane on activation of human neutrophils in *ex vivo* models. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation/Vestnik Anesthesiologii i Reanimatologii*. 2022; 19 (1): 32–39. (in Russ.)]. DOI: 10.21292/2078-5658-2022-19-1-32-39.
 49. Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Мешков М.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Шпичко Н.П., Ершов А.В. Влияние хлорида лития на эндотелиоциты при синдроме системной воспалительной реакции у пациентов с тяжелой сочетанной травмой. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020; 3: 115–121. [Kuzovlev A.N., Grebenshchikov O.A., Meshkov M.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D., Shpichko N.P., Ershov A.V. Influence of lithium chloride on the apoptosis of endothelial cells in systemic inflammatory response syndrome in patients with severe multiple injury. A retrospective study. *Ann Crit Care /Vestnik Intensivnoy Terapii im AI Saltanova*. 2020; 3: 115–121. (in Russ.)]. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121.
 50. Гребенчиков О.А., Кулабухов В.В., Шабанов А.К., Игнатенко О.В., Антонова В.В., Черпаков Р.А., Редкин И.В. с соавт. Перспективы применения ингаляционной седации в интенсивной терапии. *Анестезиология и реаниматология*. 2022; (3): 84–94. [Grebenshchikov O.A., Kulabukhov V.V., Shabanov A.K., Ignatenko O.V., Antonova V.V., Cherpakov R.A., Redkin I.V. et al. Prospects of inhalation sedation in intensive care. *Anesthesiol.Reanimatol/ Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2022; (3): 84–94. (in Russ.)]. DOI: 10.17116/anaesthesiology202203184.

Поступила 17.10.2022

Принята в печать 02.03.2023