

Изучение нейропротективного эффекта ингаляции аргон-кислородной смеси после фотоиндуцированного ишемического инсульта

Е. А. Боева^{1*}, Д. Н. Силачев², Э. И. Якупова², М. А. Милованова¹,
Л. А. Варнакова¹, С. Н. Калабушев¹, С. О. Денисов¹, В. В. Антонова¹,
И. А. Рыжков¹, К. Н. Лапин¹, А. А. Гребенчикова³

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² НИИ Физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского,
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Россия, 119992, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1 стр. 40

³ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова Минздрава России,
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Для цитирования: Боева Е. А., Силачев Д. Н., Якупова Э. И., Милованова М. А., Варнакова Л. А., Калабушев С. Н., Денисов С. О., Антонова В. В., Рыжков И. А., Лапин К. Н., Гребенчикова А. А. Изучение нейропротективного эффекта ингаляции аргон-кислородной смеси после фотоиндуцированного ишемического инсульта. *Общая реаниматология*. 2023; 19 (3): 46–53. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2023-3-46-53> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Екатерина Александровна Боева, eboeva@fnkcr.ru

Резюме

Острый ишемический инсульт является серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. Поиск оптимального нейропротектора — важная задача. Во многих исследованиях было продемонстрировано, что аргон обладает нейропротективными свойствами при ишемическом повреждении головного мозга. Однако, данные таких исследований противоречивы.

Цель исследования. Оценить влияние 24-часовой ингаляции аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O₂ 30%) после фотоиндуцированного ишемического инсульта на выраженность неврологического дефицита и степень повреждения головного мозга у крыс.

Материал и методы. Эксперименты провели на крысах-самцах линии Wistar весом 430–530 г ($n=26$). Фокальный ишемический инсульт моделировали в сенсомоторной коре головного мозга крыс с помощью фотохимически индуцированного сосудистого тромбоза. Животных случайным образом разделили на 3 группы: ложно-оперированные животные + ингаляция N₂ 70%/O₂ 30% (ЛО, $n=6$); Инсульт + ингаляция N₂ 70%/O₂ 30% (Инсульт, $n=10$); Инсульт + ингаляция Ar 70%/O₂ 30% (Инсульт+iAr, $n=10$). Неврологический статус оценивали в течение 14 дней в тесте «Постановка конечности на опору (ПКО)». Также через 14 сут после инсульта выполнили магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга с морфометрической оценкой размера очага повреждения. При оценке на 3-и, 7-е и 14-е сут сумма баллов теста ПКО в группах Инсульт и Инсульт+iAr была меньше, чем в группе ЛО.

Результаты. Получили статистически значимые по результатам ПКО теста различия между группами ЛО, Инсульт и Инсульт + iAr на 3-е сут (14 (13; 14), 6,5 (4; 8), 5 (3; 8), $p=0,027$). Однако относительно друг друга группы Инсульт и Инсульт + iAr не отличались.

Заключение. 24-часовая ингаляция аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O₂ 30%) после инсульта не уменьшает объем повреждения головного мозга и не снижает выраженность неврологического дефицита.

Ключевые слова: аргон; нейропротекция; фотоиндуцированный ишемический инсульт; органопротекция

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Experimental Study of Neuroprotective Properties of Inhaled Argon-Oxygen Mixture in a Photoinduced Ischemic Stroke Model

Ekatherine A. Boeva^{1*}, Denis N. Silachev², Elmira I. Yakupova², Marina A. Milovanova¹,
Lydia A. Varnakova¹, Sergey N. Kalabushev¹, Sergey O. Denisov¹, Victoria V. Antonova¹,
Ivan A. Ryzhkov¹, Konstantin N. Lapin¹, Alexandra A. Grebenchikova³

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 A.N. Belozersky Research Institute of Physical and Chemical Biology, M. V. Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie gory, Bldg 40, 119992 Moscow, Russia

³ A.I. Evdokimov Moscow State University of medicine and dentistry, Ministry of Health of Russia
20 Delegatskaya Str., Build 1, 127473 Moscow, Russia

Summary

Acute ischemic stroke is a serious problem for healthcare systems worldwide. Searching for the optimal neuroprotector is a contemporary challenge. Various studies have demonstrated neuroprotective properties of argon in ischemic brain damage models. However, the published data are inconsistent.

The aim of the study was to evaluate the effect of 24-hour argon-oxygen mixture (Ar 70%/O₂ 30%) inhalation on the severity of neurological deficit and the extent of brain damage in rats after a photoinduced ischemic stroke.

Material and methods. The experiments were carried out on male Wistar rats weighing 430–530 g ($N=26$). Focal ischemic stroke was modeled in the sensorimotor cortex of the rat brain using photochemically induced vascular thrombosis. The animals were randomly divided into 3 groups: sham procedure + N₂ 70%/O₂ 30% inhalation (SP, $N=6$); stroke + N₂ 70%/O₂ 30% inhalation (Stroke, $N=10$); Stroke + Ar 70%/O₂ 30% inhalation (Stroke+iAr, $N=10$). The limb placement test (LPT) was used for neurological assessment during 14 days. Additionally, on day 14 after the stroke, brain MRI with lesion size morphometry was performed. Summarized for days 3, 7 and 14 LPT scores were lower in the Stroke and Stroke + iAr groups as compared to the SP group.

Results. Statistically significant differences in LPT scores between SP, Stroke, and Stroke+iAr groups were revealed on day 3 post-stroke: (scores: 14 (13; 14), 6.5 (4; 8), and 5 (3; 8), respectively, $P=0.027$). However, there was no statistical difference between the Stroke and Stroke+iAr groups.

Conclusion. 24-hour inhalation of argon-oxygen mixture (Ar 70%/O₂ 30%) after stroke does not reduce the extent of brain damage or the severity of neurological deficit.

Keywords: argon; neuroprotection; photochemically induced ischemic stroke; organoprotection

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

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

Введение

Инсульт является второй по частоте причиной смертности и инвалидизации во всем мире. При этом отмечается рост частоты встречаемости инсульта в связи с распространением сахарного диабета и ожирения [1, 2]. Патология ишемического повреждения головного мозга включает в себя активацию различных сигнальных каскадов. Недостаток кислорода приводит к прекращению работы энергозависимых ионных насосов и каналов, что приводит к высвобождению нейротрансмиттеров и последующей гибели нейронов. Имеются данные о том, что постишемическое воспаление является главной причиной вторичного повреждения головного мозга, от которого зависит тяжесть исхода инсульта [3]. Поэтому поиск клинически эффективных нейропротективных средств является актуальной задачей. Большое количество терапевтических агентов в настоящее время оцениваются в доклинических исследованиях на модели ишемического повреждения [3, 4].

Достаточно перспективным направлением в поиске нейропротекторов является проведение исследования с применением инертных (благородных) газов. Ксенон уже одобрен для клинического применения в качестве общего анестетика и подтвердил свои нейропротекторные свойства в многочисленных исследованиях *in vitro* и *in vivo* [5–13]. Другим перспективным нейропротектором может быть аргон. За несколько десятилетий были получены данные о кардио-, нейро-, нефропротективных свойствах аргона при различных патологических состояниях в экспериментальных моделях *in vivo* и *in vitro* [14–20].

При анализе литературных источников были выявлены противоречивые данные о нейропротективных свойствах аргона на различных моделях [21–35].

В ходе исследования L. Grüßer (2017) на модели черепно-мозговой травмы получил цитопротективный эффект после ингаляции аргона в течение 2 ч [36]. В 2021 г. было опубликовано 2 работы по оценке нейропротективных свойств аргона на модели закрытой черепно-мозговой травмы. Ингаляция аргона в данном исследовании осуществлялась в течение 24 ч [8, 37]. При этом в одном исследовании [8] были выявлены статистически значимые положительные результаты оценки неврологического статуса, а в исследовании J. Creed (2021), напротив, не были получены положительные эффекты [37]. Несмотря на нейропротективное действие при преимущественно ишемическом повреждении, аргон не обеспечивал защиты после черепно-мозговой травмы, что подчеркивает важность выбора модели исследования и времени экспозиции ингаляции аргона. В исследованиях на моделях ишемического повреждения вследствие кислородно-глюкозной депривации были получены положительные результаты после ингаляции аргона с разным временем экспозиции. По данным гистологического исследования отмечалось восстановление неврологического статуса, а также уменьшение объема повреждения головного мозга по данным гистологического исследования [17–25, 27–49]. При этом большинство исследований было проведено *in vitro*. S. Ma и соавт. (2019) впервые провели исследование *in vivo* на модели ишемического повреждения вследствие окклюзии средней мозговой артерии с реперфузией и без таковой [47]. В ходе исследования были подтверждены нейропротективные свойства аргона, однако, выявлено несоответствие между улучшенным неврологическим исходом и общим размером поражения [47]. Учитывая неоднозначные результаты

исследований на различных моделях ишемического повреждения, фотохимически индуцированный тромбоз представляется одной из наиболее перспективных экспериментальных моделей инсульта. В отличие от других методов индукции тромбоза, фотохимически индуцированный тромбоз может быть использован у мелких животных, так как данная модель характеризуется стойким сенсомоторным дефицитом и низкой летальностью животных в послеоперационном периоде [41].

Таким образом, учитывая литературные данные, аргон является перспективным средством защиты мозга от ишемии. Однако, отсутствие систематического результата указывает на необходимость всестороннего исследования данного газа в качестве нейропротектора.

Цель исследования — оценить влияние 24-часовой ингаляции аргон-кислородной смеси после фотоиндуцированного ишемического инсульта на выраженность неврологического дефицита и степень повреждения головного мозга у крыс.

Материал и методы

Экспериментальные животные. Эксперименты провели на крысах-самцах линии Wistar массой 430–530 г ($n=26$). За 8 ч до эксперимента животные не получали корм, но имели свободный доступ к воде. Протокол исследования был утвержден Локальным этическим комитетом ФНКЦ РР № 3/22/3 от 14 декабря 2022 г. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях.

Животных случайным образом разделили на 3 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств:

- ложно-оперированные животные, которым проводили анестезию, подготовительные мероприятия без инсульта + ингаляция N_2 70%/O₂ 30% (группа ЛО), $n=6$;

- контрольная группа с инсультом + ингаляция N_2 70%/O₂ 30% или (группа Инсульт), $n=10$;

- опытная группа с инсультом + ингаляция Ar 70%/O₂ 30% (группа Инсульт + iAr), $n=10$.

Моделирование фотоиндуцированного ишемического инсульта. В условиях общей анестезии севофлураном 7,0–8,0 мл (2–4 об%) с помощью системы для низкотоковой анестезии мелких лабораторных животных SomnoSuite (Kent Scientific Corporation, USA) с потоком кислорода 1 л/мин с помощью фотохимически индуцированного тромбоза сосудов коры головного мозга моделировали ишемический инсульт в соответствии с методикой [45]. Светочувствительный краситель rose Bengal (3%, 40 мг/кг внутривенно; Sigma-Aldrich, St. Луис, Миссури, США) вводили в яремную вену. После этого голову крысы

фиксируют в стереотаксической рамке (стереотаксические координаты Bregma: 0,5 мм дистально и 2,5 мм латерально), и обнажали череп через разрез по средней линии, очищенный от надкостницы. Далее, полушарие мозга в области сенсомоторной коры облучали зеленым светом при $\lambda=550$ нм в течение 15 минут. После наложения на кожу швов крыс помещали в клетку под инфракрасную нагревательную лампу до их выхода из наркоза. Температуру тела во время всего эксперимента поддерживали на уровне $37\pm 0,5^\circ\text{C}$. Термометрию выполняли путем установки ректального датчика температуры тела, а терморегуляцию — в автоматическом режиме за счет соединения модуля обогрева с термореле и установкой пограничных значений. Ложнооперированным животным выполняли оперативное вмешательство в объеме паратрахеального разреза с выделением внутренней яремной вены и обнажения черепа через разрез по средней линии [44].

Воздействие аргоном. Через 15 мин после моделирования инсульта животное помещали в прозрачную пластиковую камеру объемом 15 л, в которую постоянно подавали свежую газовую смесь (N_2 70%/O₂ 30% — группы ЛО и Инсульт; Ar 70%/O₂ 30% — группа Инсульт + iAr) с потоком 0,5 л/мин на одно животное. Одновременно в камере находились не более 5 животных одной группы, что позволяло избежать гипоксии и гиперкапнии.

Время экспозиции в камере составило 24 ч. Во время всего эксперимента осуществляли непрерывный контроль содержания O₂ и CO₂ в камере с животными с использованием блока контроля атмосферы закрытых помещений (ЗАО «ИНСОВТ» СПб, Россия). После окончания периода экспозиции проводили оценку общего состояния животного (уровень бодрствования, подвижность) и обезболивание (парацетамол 50 мг/кг п/к). Затем животное перемещали в клетку с предоставлением свободного доступа к воде и пище.

Оценка неврологического статуса. Оценка неврологического статуса животных проводили за сутки до эксперимента (Д0), на 3-й день (Д3), 7-й день (Д7), 14-й день (Д14) после инсульта.

Использовали протокол, основанный на методике, описанной Де Риком и соавт. (1989) [43] и модифицированный Ю. Ёлкконеном и соавт. (2000) [43]. Крыс приучали к рукам в течение недели до тестирования. Тест состоял из семи испытаний, оценивающих сенсомоторную интеграцию передних и задних конечностей в ответ на тактильную, проприоцептивную и зрительную стимуляцию. Каждый тест оценивали следующим образом: крыса выполняла испытание нормально — 2 балла; крыса выполняла испытание с промедлением (>2 с) и/или не полностью — 1 балл; крыса не выполнила испытание — 0 баллов. Баллы суммировали, результаты представили в виде суммы баллов за тест.

На 14-е сут после инсульта проводили МРТ-исследование животных на томографе с индукцией

магнитного поля 7 Тл и градиентной системой 105 мТл/м (BioSpec 70/30, Bruker, Германия). Анестезию осуществляли изофлураном (1,5–2%), после чего крысу помещали в устройство позиционирования с системой стереотаксиса и терморегуляции как описано ранее [44].

Использовали стандартный протокол исследования мозга крысы, который включает в себя получение T2-взвешенных изображений. Для передачи радиочастотного (РЧ) сигнала использовали линейный трансмиттер с внутренним диаметром 72 мм, для детекции РЧ-сигнала — поверхностную приемную катушку для мозга крысы. Использовали следующие импульсные последовательности (ИП): RARE — ИП на основе спинного эха с параметрами: TR=6000 мс, TE=63,9 мс, толщина среза 0,8 мм с шагом 0,8 мм, размер матрицы 256×384, разрешение 0,164×0,164 мм/пиксел. Общее время сканирования одного животного составляло около 25 мин. Степень повреждения головного мозга оценивали с помощью графического анализа МРТ изображений с подсчетом объема поврежденного участка головного мозга. Для этого на серии МРТ-изображений выделяли слайд с наибольшей площадью поражения головного мозга. С помощью программы ImageJ (National Institutes of Health image software, Bethesda, MD, США) рассчитывали площадь повреждения в мм². Далее аналогичным образом рассчитывали площадь повреждения головного мозга еще на четырех слайдах (два — краиниальнее и два — каудальнее). Объем повреждения головного мозга рассчитывали по формуле:

$$V = \sum S_n \times d,$$

где **d** — толщина одного среза (0,8 мм), $\sum S_n$ — сумма площадей повреждения на пяти слайдах (мм²) [44]. Летальность в группах животных оценивали через 24 ч, на 7-е и 14-е сут после инсульта.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., США) и GraphPad Prism. Нормальность распределения признака в выборках оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Все данные представили как медиану (интерквартильный интервал). Статистические различия в данных, имеющих хотя бы в одной из групп распределение, отличное от нормального, анализировали с использованием *U*-теста Манна–Уитни с применением поправки Бонферрони для сопоставления трех и более групп, а также критерий Краскела–Уоллиса или *U*-теста Манна–Уитни для анализа не более 2-х групп. Критерием статистической значимости был уровень $p < 0,05$.

Результаты

На протяжении 14 дней из эксперимента животных не выводили, не было достижения гуманной конечной точки. Летальных исходов не было.

Неврологическая оценка. Тест постановки конечностей на опору (ПКО). В каждой из вре-

менных точек (ДЗ, Д7 и Д14) сумма баллов за ПКО у животных обеих экспериментальных групп была меньше, чем в группе ЛО. Получили статистически значимые различия между группой ЛО и группами Инсульт и Инсульт + iAg на 3-е сут (14 (13; 14), 6,5 (4; 8), 5 (3; 8), $p=0,027$). При этом друг от друга группы Инсульт и Инсульт + iAg не отличались (3-и сут — $p=0,57$, 7-е сут — $p=0,70$, 14-е сут — $p=0,71$) (рис. 1).

В динамике в группе ЛО животных значения данного показателя не менялось с ДЗ по

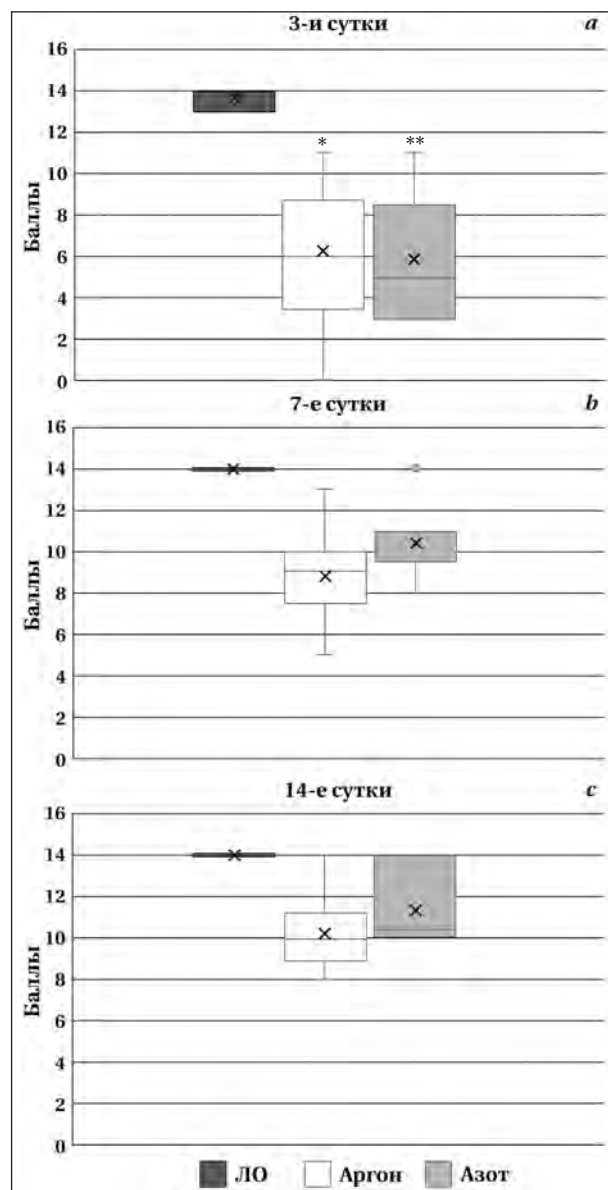


Рис. 1. Тест ПКО.

Примечание. *a* — результаты на 3-и сут после моделирования инсульта; $p=0,027$ между группами ЛО и Инсульт*, ЛО и Инсульт + iAg**. *b* — результаты через 7 дней после моделирования инсульта. *c* — результаты через 14 дней после моделирования инсульта. Данные представили в виде медиан и квартилей [25%; 75%]. Применяли *U*-тест Манна–Уитни с применением поправки Бонферрони, критерий Краскела–Уоллиса для сопоставления трех и более групп.

Д14 (рис. 2, а). Динамика баллов ПКО в группах Инсульт и Инсульт + iAr была практически одинаковой: наименьшие значения были в точке Д1 (Инсульт — 5,9 (3; 8) и Инсульт + iAr — 6,3 (7; 9,5), $p=0,73$). Затем в точке Д7 отмечали увеличение этого показателя в обеих группах (Инсульт — 10,4 (10; 10,8) и Инсульт + iAr — 8,8 (8; 10), $p=0,59$). В точке Д14 суммарный балл ПКО в группах Инсульт (11,4 (10; 14)) (рис. 2, б) и Инсульт + iAr (10,3 (9; 11)) (рис. 2, с) был выше не только в сравнении с Д1 (Инсульт $p=0,56$, Инсульт + iAr $p=0,63$), но и в сравнении с Д7 (Инсульт

$p=0,68$, Инсульт + iAr $p=0,61$). Однако, различия статистически не значимы.

МРТ исследование головного мозга. Средний объем повреждения в группе инсульт + iAr и группе инсульт составил 9,68 (7,42; 12,2) мм³ и 9,34 (8,74; 12,90) мм³, соответственно. Статистически значимых различий между группами не выявили ($p=0,500$) (рис. 3, 4).

Обсуждение

Данное исследование разработали для оценки нейропротективного действия аргона на значимые параметры исхода после ишемического инсульта. Согласно литературным данным, наиболее выраженный нейропротективный эффект этого газа выявлялся на моделях ишемического повреждения нейронов *in vitro*. Так, на модели черепно-мозговой травмы *in vitro* [49] было показано, что применение аргона 50% по сравнению с десфлураном 6% демонстрировало выраженный нейропротективный профиль. В то же время, небольшое количество доклинических исследований протективного действия аргона *in vivo* показало противоречивые результаты.

Выполненное исследование нейропротективного эффекта 24-часовой ингаляции аргона с первых часов фотоиндуцированного ишемического инсульта у крыс не показало ее значимого влияния на уровень неврологического дефицита в течение 2-х недель постишемического периода, а также объем повреждения по данным МРТ на 14-е сут.

Отрицательный результат исследования может быть обусловлен несколькими факторами.

Во-первых, аргон в отличие от ксенона действительно может не обладать клинически значимыми нейропротективными эффектами при ишемическом инсульте, что подтверждают отрицательные результаты, полученные в ис-

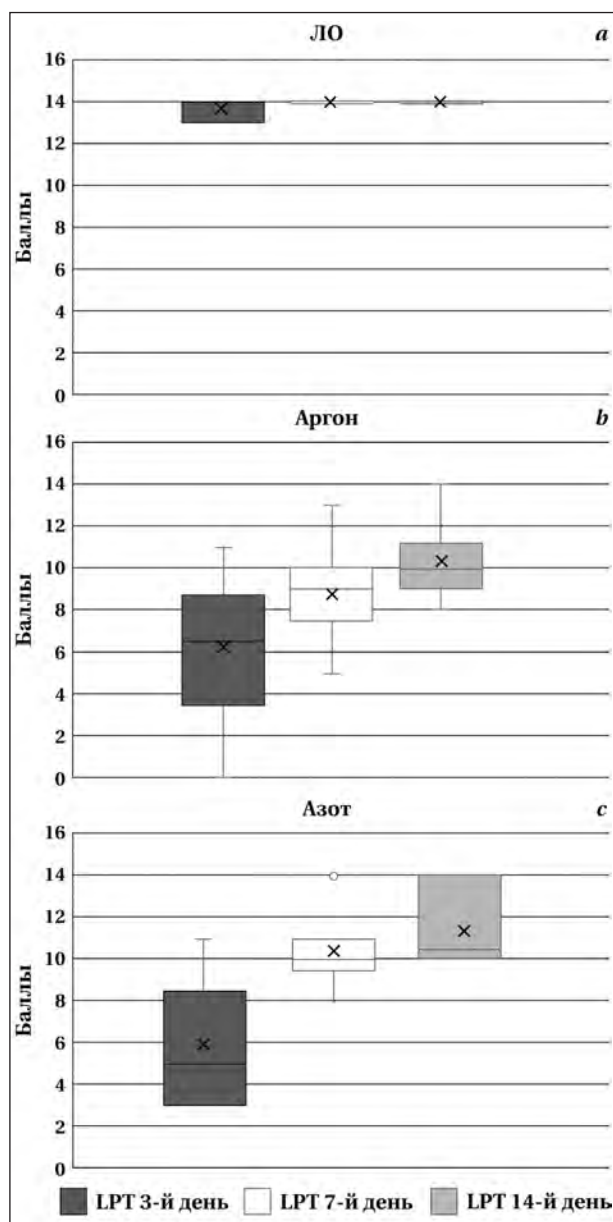


Рис. 2. Тест ПКО.

Примечание. Динамика изменения результатов ПКО: а — в группе ЛО; б — в группе инсульта+iAr; с — в группе инсульт. Данные представили в виде медиан и квартилей. Применяли U-тест Манна–Уитни с применением поправки Бонферрони, критерий Краскела–Уоллиса для сопоставления трех и более групп.

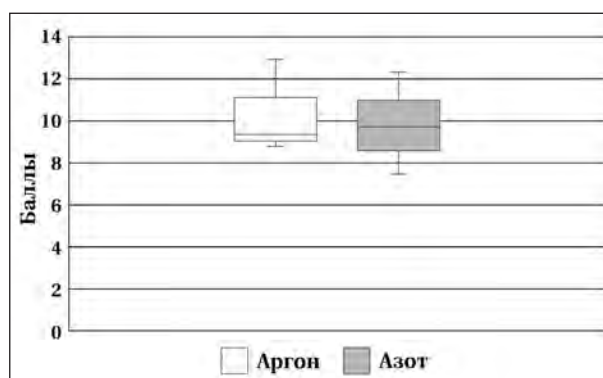


Рис. 3. Объем зоны повреждения головного мозга крыс на 14-е сутки наблюдения по данным МРТ.

Примечание. Данные представили в виде медиан и квартилей.

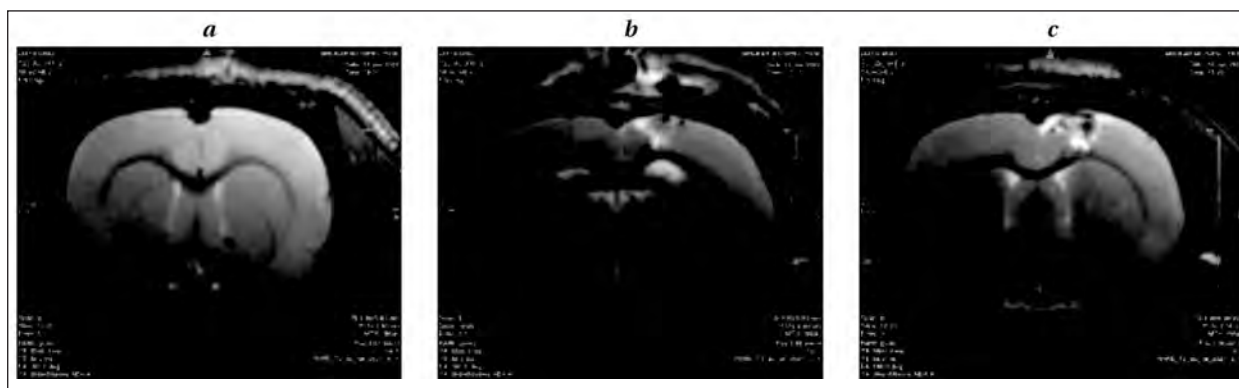


Рис. 4. МРТ-исследование головного мозга крыс.

Примечание. *a* — T2-взвешенное корональное МРТ-изображение животного из группы ЛО; *b* — T2-взвешенное корональное МРТ-изображение животного из группы Инсульт; *c* — T2-взвешенное корональное МРТ-изображение животного из группы Инсульт + iAr.

следования *in vivo* [28]. Во-вторых, практически всегда экспериментальное моделирование инсульта и других повреждений головного мозга проводится на анестезированных животных, поэтому обязательно нужно учитывать эффекты используемого анестетика. По данным литературы, сравнительные исследования севофлурана, изофлурана и аргона на модели ишемического повреждения не проводились. Нужно отметить, что в обеих группах с инсультом у животных были высокие баллы в тесте «Постановка конечности на опору», что может свидетельствовать о проявлении нейропротективного действия севофлурана. Данные экспериментальных и клинических исследований подтверждают выраженные нейропротективные свойства севофлурана [50–52]. В связи с этим, использование в качестве анестетика другого препарата, не обладающего выраженными органопротективными эффектами (например, хлоралгидрат [53]), возможно, позволит выявить нейропротективные эффекты аргона в подобной экспериментальной модели. Другой фактор, который мог влиять на результаты исследования, это время и условия экспозиции. С одной стороны, экспозиция в течение 24 ч должна была быть достаточной для получения положительного результата. Однако, в ряде исследований [54, 55] было выдвинуто предположение,

что аргон из-за его удельной теплоемкости, вдвое меньшей, чем у воздуха вызывает умеренную гипертермию — состояние, которое усугубляет ишемическое повреждение головного мозга. В выполненном исследовании температуру животных в постоперационном периоде, а также объем потребляемой животным жидкости не оценивали. В связи с этим длительный период ингаляции аргона в закрытой камере мог влиять на полученные результаты. Однако, учитывая отсутствие статистически значимых различий между группами, можно предположить, что длительная ингаляция аргона не оказывала повреждающего эффекта.

Учитывая полученные данные, а также проведенный анализ литературы, можно сделать вывод, что для оценки нейропротективного эффекта аргона требуются дальнейшие исследования с измененным дизайном, учитывающим обозначенные выше ограничения данного исследования.

Заключение

24-часовая ингаляция аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O₂ 30%) после фотохимически индуцированного инсульта не уменьшает объем повреждения головного мозга и не снижает выраженность неврологического дефицита.

Литература

1. Jurcau A., Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies. *Int J Mol Sci.* 2021; 23 (1): 14. DOI: 10.3390/ijms23010014. PMID: 35008440.
2. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А. Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общая реаниматология.* 2021; 17 (5): 101–110. [Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A. Effect of lithium chloride concentration on its neuroprotective properties in ischemic stroke in rats. *General Reanimatology /Obshchaya Reanimatologiya.* 2021; 17 (5): 101–110. (In Russ.)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2021-5-101-110
3. Paul S., Candelario-Jalil E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: an overview of clinical and preclinical studies. *Exp Neurol.* 2021; 335: 113518. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113518. PMID: 33144066
4. Rabinstein A.A. Update on treatment of acute ischemic stroke. *Continuum (Minneapolis Minn).* 2020; 26 (2): 268–286. DOI: 10.1212/CON.0000000000000840. PMID: 32224752.
5. Campos-Pires R., Koziakova M., Yonis A., Pau A., Macdonald W., Harris K., Edge C.J. et al. Xenon protects against blast-induced traumatic brain injury in an in vitro model. *J Neurotrauma.* 2018; 35 (8): 1037–1044. DOI: 10.1089/neu.2017.5360. PMID: 29285980.
6. Campos-Pires R., Hirmet T., Valeo F., Ong B.E., Radyushkin K., Aldhoun J., Saville J. et al. Xenon improves long-term cognitive function, reduces neuronal loss and chronic neuroinflammation, and improves survival after traumatic brain injury in mice. *Br J Anaesth.* 2019; 123 (1): 60–73. DOI: 10.1016/j.bja.2019.02.032. PMID: 31122738
7. Filev A.D., Silachev D.N., Ryzhkov I.A., Lapin K.N., Babkina A.S., Grebenchikov O.A., Pisarev V.M. Effect of xenon treatment on gene

- expression in brain tissue after traumatic brain injury in rats. *Brain Sci.* 2021; 11 (7): 889. DOI: 10.3390/brainsci11070889. PMID: 34356124
8. Moro F., Fossi F., Magliocca A., Pascente R., Sammal E., Baldini F., Tolomeo D. et al. Efficacy of acute administration of inhaled argon on traumatic brain injury in mice. *Br J Anaesth.* 2021; 126 (1): 256–264. DOI: 10.1016/j.bja.2020.08.027. PMID: 32977957
 9. Zhang M., Cui Y., Cheng Y., Wang Q., Sun H. The neuroprotective effect and possible therapeutic application of xenon in neurological diseases. *J Neurosci Res.* 2021; 99 (12): 3274–3283. DOI: 10.1002/jnr.24958. PMID: 34716615
 10. Maze M., Laitio T. Neuroprotective properties of xenon. *Mol Neurobiol.* 2020; 57 (1): 118–124. DOI: 10.1007/s12035-019-01761-z. PMID: 31758401
 11. Wang J., Li R., Peng Z., Hu B., Rao X., Li J. HMGB1 participates in LPS-induced acute lung injury by activating the AIM2 inflammasome in macrophages and inducing polarization of M1 macrophages via TLR2, TLR4, and RAGE/NF- κ B signaling pathways. *Int J Mol Med.* 2020; 45 (1): 61–80. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4402. PMID: 31746367
 12. Zewinger S., Reiser J., Jankowski V., Alansary D., Hahm E., Triem S., Klug M. et al. Apolipoprotein C3 induces inflammation and organ damage by alternative inflammasome activation. *Nat Immunol.* 2020; 21 (1): 30–41. DOI: 10.1038/s41590-019-0548-1. PMID: 31819254
 13. Mitsui Y., Hou L., Huang X., Odegard K.C., Pereira L.M., Yuki K. Volatile anesthetic sevoflurane attenuates toll-like receptor 1/2 activation. *Anesth Analg.* 2020; 131 (2): 631–639. DOI: 10.1213/ANE.0000000000004741. PMID: 32149756
 14. Brücken A., Kurnaz P., Bleilevens C., Derwall M., Weis J., Nolte K., Rossaint R. et al. Dose dependent neuroprotection of the noble gas argon after cardiac arrest in rats is not mediated by K (ATP)-channel opening. *Resuscitation.* 2014; 85 (6): 826–832. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.02.014. PMID: 24582739
 15. Lemoine S., Blanchard K., Souplis M., Lemaitre A., Legallois D., Coulbault L., Simard C. et al. Argon exposure induces postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2017; 22 (6): 564–573. DOI: 10.1177/1074248417702891. PMID: 28381122
 16. Mayer B., Soppert J., Kraemer S., Schemmel S., Beckers C., Bleilevens C., Rossaint R. et al. Argon induces protective effects in cardiomyocytes during the second window of preconditioning. *Int J Mol Sci.* 2016; 17 (7): 1159. DOI: 10.3390/ijms17071159. PMID: 27447611
 17. Ulbrich F., Kaufmann K., Roesslein M., Wellner F., Auwärter V., Kempf J., Loop T. et al. Argon mediates anti-apoptotic signaling and neuroprotection via inhibition of toll-Like receptor 2 and 4. *PLoS One.* 2015; 10 (12): e0143887. DOI: 10.1371/journal.pone.0143887. PMID: 26624894
 18. Ulbrich F., Lerach T., Biermann J., Kaufmann K.B., Lagreze W.A., Buerkle H., Loop T. et al. Argon mediates protection by interleukin-8 suppression via a TLR2/TLR4/STAT3/NF- κ B pathway in a model of apoptosis in neuroblastoma cells *in vitro* and following ischemia-reperfusion injury in rat retina *in vivo*. *J Neurochem.* 2016; 138 (6): 859–73. DOI: 10.1111/jnc.13662. PMID: 27167824
 19. Spaggiari S., Kepp O., Rello-Varona S., Chaba K., Adjemian S., Pype J., Galluzzi L. et al. Antiapoptotic activity of argon and xenon. *Cell Cycle.* 2013; 12 (16): 2636–42. DOI: 10.4161/cc.25650. PMID: 23907115
 20. Fahlenkamp A.V., Rossaint R., Coburn M. Neuroprotektion durch edelgase: neue entdeckungen und erkenntnisse. [Neuroprotection by noble gases: new developments and insights]. *Anaesthesist.* 2015; 64 (11): 855–858. (in German). DOI: 10.1007/s00101-015-0079-6. PMID: 26329914
 21. Fahlenkamp A.V., Rossaint R., Haase H., Al Kassam H., Ryang Y.M., Beyer C., Coburn M. The noble gas argon modifies extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling in neurons and glial cells. *Eur J Pharmacol.* 2012; 674 (2-3): 104–111. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.10.045. PMID: 22094065
 22. Zhao H., Mitchell S., Ciechanowicz S., Savage S., Wang T., Ji X., Ma D. Argon protects against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats through activation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2. *Oncotarget.* 2016; 7 (18): 25640–51. DOI: 10.18632/oncotarget.8241. PMID: 27016422
 23. Zhao H., Mitchell S., Koumpa S., Cui Y.T., Lian Q., Hagberg H., Johnson M.R. et al. Heme oxygenase-1 mediates neuroprotection conferred by argon in combination with hypothermia in neonatal hypoxia-ischemia brain injury. *Anesthesiology.* 2016; 125 (1): 180–92. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001128. PMID: 27065095
 24. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R., Kiru L., Franks N.P., Dickinson R. Neuroprotection against traumatic brain injury by xenon, but not argon, is mediated by inhibition at the N-methyl-D-aspartate receptor glycine site. *Anesthesiology.* 2013; 119 (5): 1137–48. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3182a2a265. PMID: 23867231
 25. David H.N., Haelewyn B., Risso J.-J., Abraini J.H. Modulation by the noble gas argon of the catalytic and thrombolytic efficiency of tissue plasminogen activator. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2013; 386 (1): 91–5. DOI: 10.1007/s00210-012-0809-0. PMID: 23142817
 26. Höllig A., Weinandy A., Liu J., Clusmann H., Rossaint R., Coburn M. Beneficial properties of argon after experimental subarachnoid hemorrhage: early treatment reduces mortality and influences hippocampal protein expression. *Crit Care Med.* 2016; 44 (7): e520–9. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001561. PMID: 26751611
 27. Zhuang L., Yang T., Zhao H., Fidalgo A.R., Vizcaychipi M.P., Sanders R.D., Yu B. et al. The protective profile of argon, helium, and xenon in a model of neonatal asphyxia in rats. *Crit Care Med.* 2012; 40 (6): 1724–1730. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182452164. PMID: 22610177
 28. Fahlenkamp A.V., Coburn M., de Prada A., Gereitig N., Beyer C., Haase H., Rossaint R. et al. Expression analysis following argon treatment in an *in vivo* model of transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Med Gas Res.* 2014; 4: 11. DOI: 10.1186/2045-9912-4-11. PMID: 25671080
 29. Ulbrich F., Schallner N., Coburn M., Loop T., Lagreze W.A., Biermann J., Goebel U. Argon inhalation attenuates retinal apoptosis after ischemia/reperfusion injury in a time- and dose-dependent manner in rats. *PLoS One.* 2014; 9 (12): e115984. DOI: 10.1371/journal.pone.0115984. PMID: 25535961
 30. Ulbrich F., Kaufmann K.B., Coburn M., Lagreze W.A., Roesslein M., Biermann J., Buerkle H. et al. Expression analysis following argon are mediated via an ERK-1/2 dependent regulation of heme-oxygenase-1 in retinal ganglion cells. *J Neurochem.* 2015; 134 (4): 717–727. DOI: 10.1111/jnc.13115. Epub 2015. PMID: 25876941
 31. Abraini J.H., Kriem B., Balon N., Rostain J.-C., Risso J.J. Gamma-aminobutyric acid neuropharmacological investigations on narcosis produced by nitrogen, argon, or nitrous oxide. *Anesth Analg.* 2003; 96 (3): 746–749. DOI: 10.1213/01.ANE.0000050282.14291.38. PMID: 12598256
 32. Faure A., Bruzzese L., Steinberg J.-G., Jammes Y., Torrents J., Berdah S.V., Garnier E. et al. Effectiveness of pure argon for renal transplant preservation in a preclinical pig model of heterotopic autotransplantation. *J Transl Med.* 2016; 14: 40. DOI: 10.1186/s12967-016-0795-y. PMID: 26847569
 33. Liu J., Nolte K., Liebenstund L., Weinandy A., Höllig A., Veldeman M. et al. Post-stroke treatment with argon attenuated brain injury, reduced brain inflammation and enhanced M2 microglia/macrophage polarization: a randomized controlled animal study. *Crit Care.* 2019; 23 (1): 198. DOI: 10.1186/s13054-019-2493-7. PMID: 31159847
 34. De Roux Q., Lidouren F., Kudela A., Slassi L., Kohlhauser M., Boissady E., Chalopin M. et al. Argon attenuates multiorgan failure in relation with HMGB1 inhibition. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (6): 3257. DOI: 10.3390/ijms22063257. PMID: 33806919
 35. Qi H., Soto-Gonzalez L., Krychtiuk K.A., Ruhittel S., Kaun C., Speidl W.S., Kiss A. et al. Pretreatment with argon protects human cardiac myocyte-like progenitor cells from oxygen glucose deprivation-induced cell death by activation of AKT and differential regulation of mapkinases. *Shock.* 2018; 49 (5): 556–563. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000998. PMID: 29658909
 36. Grüßer L., Blaumeiser-Debarry R., Krings M., Kremer B., Höllig A., Rossaint R., Coburn M. Argon attenuates the emergence of secondary injury after traumatic brain injury within a 2-hour incubation period compared to desflurane: an *in vitro* study. *Med Gas Res.* 2017; 7 (2): 93–100. DOI: 10.4103/2045-9912.208512. PMID: 28744361
 37. Creed J., Cantillana-Riquelme V., Yan B.H., Ma S., Chu D., Wang H., Turner D.A. et al. Argon inhalation for 24 h after closed-head injury does not improve recovery, neuroinflammation, or neurologic outcome in mice. *Neurocrit Care.* 2021; 34 (3): 833–843. DOI: 10.1007/s12028-020-01104-0. PMID: 32959200
 38. David H.N., Dhilly M., Degoulet M., Poisnel G., Meckler C., Vallée N., Blatteau J.-E. et al. Argon blocks the expression of locomotor sensitization to amphetamine through antagonism at the vesicular monoamine transporter-2 and mu-opioid receptor in the nucleus accumbens. *Transl Psychiatry.* 2015; 5 (7): e594. DOI: 10.1038/tp.2015.27. PMID: 26151922
 39. Zhuang L., Yang T., Zhao H., Fidalgo A.R., Vizcaychipi M.P., Sanders R.D., Yu B. et al. The protective profile of argon, helium, and xenon in a model of neonatal asphyxia in rats. *Crit Care Med.* 2012; 40 (6): 1724–1730. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182452164. PMID: 22610177
 40. Koziakova M., Harris K., Edge C.J., Franks N.P., White L.L., Dickinson R. Noble gas neuroprotection: xenon and argon protect against hypoxic-ischaemic injury in rat hippocampus *in vitro* via distinct mechanisms. *Br J Anaesth.* 2019; 123 (5): 601–609. DOI: 10.1016/j.bja.2019.07.010. PMID: 31470983
 41. Shakova F.M., Kirova Y.I., Silachev D.N., Romanova G.A., Morozov S.G. Protective effects of PGC-1 α activators on ischemic stroke in a rat model of photochemically induced thrombosis. *Brain Sci.* 2021; 11 (3): 325. DOI: 10.3390/brainsci11030325. PMID: 33806692
 42. De Ryck M., Van Reempts J., Borgers M., Wauquier A., Janssen P.A. Photochemical stroke model: flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats. *Stroke.* 1989; 20 (10): 1383–1390. DOI: 10.1161/01.str.20.10.1383. PMID: 2799870
 43. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S., Härkönen A., Haapalinna A., Sivenius J. Behavioral effects of the alpha (2)-adrenoceptor an-

- tagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *Eur J Pharmacol.* 2000; 400 (2–3): 211–219. DOI: 10.1016/S0014-2999(00)00409-x. PMID: 10988336
44. Silachev D.N., Uchevatkin A.A., Pirogov Yu.A., Zorov D.B., Isaev N.K. Comparative evaluation of two methods for studies of experimental focal ischemia: magnetic resonance tomography and triphenyltetrazoleum detection of brain injuries. *Bull Exp Biol Med.* 2009; 147 (2): 269–272. DOI: 10.1007/s10517-009-0489-z. PMID: 19513437
 45. Isaev N.K., Novikova S.V., Stelmashook E.V., Barskov I.V., Silachev D.N., Khaspekov L.G., Skulachev V.P. et al. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQR1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat. *Biochemistry (Mosc).* 2012; 77 (9): 996–999. DOI: 10.1134/S0006297912090052. PMID: 23157258
 46. Голубев А. М. Модели ишемического инсульта (обзор). *Общая реаниматология.* 2020; 16 (1): 59–72. [Golubev A.M. Models of ischemic stroke (Review). *General Reanimatology/ Obshchaya Reanimatologiya.* 2020; 16 (1): 59–72. (In Russ.)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72
 47. Ma S., Chu D., Li L., Creed J.A., Ryang Y.-M., Sheng H., Yang W. et al. Argon inhalation for 24 hours after onset of permanent focal cerebral ischemia in rats provides neuroprotection and improves neurologic outcome. *Crit Care Med.* 2019; 47 (8): e693–e699. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003809. PMID: 31094741
 48. Zhang L., Chopp M., Zhang Y., Xiong Y., Li C., Sadry N., Rhaleb I. et al. Diabetes mellitus impairs cognitive function in middle-aged rats and neurological recovery in middle-aged rats after stroke. *Stroke.* 2016; 47 (8): 2112–2118. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.012578. PMID: 27387991
 49. Shin S.S., Hwang M., Diaz-Arrastia R., Kilbaugh T.J. Inhalational gases for neuroprotection in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2021; 38 (19): 2634–2651. DOI: 10.1089/neu.2021.0053. PMID: 33940933
 50. Заржецкий Ю.В., Борисов К.Ю., Гребенчиков О.А., Шайбакова В.Л., Левиков Д.И., Лихванцев В.В. Влияние севофлурана на функциональное восстановление животных, перенесших системную остановку кровообращения. *Общая реаниматология.* 2012; 8 (2): 15. [Zarzhetsky Yu.V., Borisov K.Yu., Grebenchikov O.A., Shaibakova V.L., Levikov D.I., Likhvantsev V.V. Effect of sevoflurane on functional recovery in animals sustaining systemic circulatory arrest. *General Reanimatology/ Obshchaya Reanimatologiya.* 2012; 8 (2): 15. (In Russ.)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-2-15
 51. Гребенчиков О.А., Аврущенко М.Ш., Борисов К.Ю., Ильин Ю.В., Лихванцев В.В. Нейропротекторные эффекты севофлурана на модели тотальной ишемии-реперфузии. *Клиническая Патифизиология.* 2014; 2: 57–65. [Grebenchikov O.A., Avrushchenko M.Sh., Borisov K.Yu., Ilyin Yu.V., Likhvantsev V.V. Neuroprotective effects of sevoflurane on the model of total ischemia-reperfusion. *Clinical Pathophysiology/ Klinicheskaya Patofiziologiya.* 2014; 2: 57–65. (In Russ.)]. eLIBRARY ID: 26292775
 52. Likhvantsev V.V., Landoni G., Levikov D.I., Grebenchikov O.A., Skripkin Y.V., Cherpakov R. A. Sevoflurane versus total intravenous anesthesia for isolated coronary artery bypass surgery with cardiopulmonary bypass: a randomized trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2016; 30 (5): 1221–1227. DOI: 10.1053/j.jvca.2016.02.030. PMID: 27431595
 53. Silachev D.N., Usatikova E.A., Pevzner I.B., Zorova L.D., Babenko V.A., Gulyaev M.V., Pirogov Y.A. et al. Effect of anesthetics on efficiency of remote ischemic preconditioning. *Biochemistry (Mosc).* 2017; 82 (9): 1006–1016. DOI: 10.1134/S0006297917090036. PMID: 28988529.
 54. Боева Е.А., Гребенчиков О.А. Органопротективные свойства аргона (обзор). *Общая реаниматология.* 2022; 18 (5): 44–59. [Boeva E.A., Grebenchikov O.A. Organoprotective Properties of Argon (Review). *General Reanimatology/ Obshchaya Reanimatologiya.* 2022; 18 (5): 44–59. (In Russ.)]. DOI: 10.15360/1813-9779-2022-5-44-59.
 55. David H.N., Haelewyn B., Degoulet M., Colomb D.G. Jr, Risso J.J., Abraini J.H. Ex vivo and in vivo neuroprotection induced by argon when given after an excitotoxic or ischemic insult. *PLoS One.* 2012; 7 (2): e30934. DOI: 10.1371/journal.pone.0030934. PMID: 22383981

Поступила 25.01.2023

Принята в печать 01.06.2023