

НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ КРИПТОНА ПРИ ФОТОИНДУЦИРОВАННОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ У КРЫС

Игорь Владимирович Шумов¹, Виктория Витальевна Антонова^{2,3,4},
Екатерина Александровна Боева³, Владимир Терентьевич Долгих⁴,
Олег Александрович Гребенчиков⁵

^{1,2,3,4,5}Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия

¹shumoff-03@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-9397-4636>

²victoryant.sci@gmail.com^{ORCID}, <https://orcid.org/0000-0002-0819-7886>

³eboeva@fnkrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0422-5018>

⁴prof_dolgih@m-ail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>

⁵oleg.grebenchikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9045-6017>

Аннотация. Цель – оценить влияние двухчасовой ингаляции криптон-кислородной смеси после моделирования фотоиндуцированного ишемического инсульта на выраженность неврологического дефицита и степень повреждения головного мозга у крыс. Эксперименты провели на крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г (n = 20). После моделирования фотоиндуцированного инсульта животных подвергали ингаляции азот-кислородной смеси N₂ 70%/O₂ 30% (группа Азот; n = 10) либо криптон-кислородной газовой смеси Kr 70%/O₂ 30% (группа Криптон; n = 10) в течение двух часов с последующим наблюдением животных в течение 14 дней. На 3, 7 и 14-й день выполняли неврологический тест «Постановка конечности на опору», осуществляли эвтаназию и забирали головной мозг для гистологических и иммуногистохимических исследований. Установлено, что двухчасовая ингаляция криптон-кислородной газовой смеси обуславливает более выраженное восстановление неврологического статуса животных на 7-е сутки наблюдения, а также способствует усилению процессов репарации и регенерации поврежденного головного мозга животных.

Ключевые слова: фотоиндуцированный инсульт у крыс, нейропротекция криптон-кислородной газовой смесью, репарация и регенерация головного мозга

Шифр специальности: 3.3.3. Патологическая физиология.

Для цитирования: Шумов И.В., Антонова В.В., Боева Е.А., Долгих В.Т., Гребенчиков О.А. Нейропротективные эффекты криптона при фотоиндуцированном ишемическом инсульте у крыс // Вестник СурГУ. Медицина. 2023. Т. 16, № 3. С. 89–96. DOI 10.35266/2304-9448-2023-3-89-96.

Original article

NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF KRYPTON IN PHOTO-INDUCED CEREBRAL INFARCTION IN RATS

Igor V. Shumov¹, Viktoriya V. Antonova^{2,3,4}, Ekaterina A. Boeva³,
Vladimir T. Dolgikh⁴, Oleg A. Grebenchikov⁵

^{1,2,3,4,5}Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, Moscow, Russia

¹shumoff-03@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-9397-4636>

²victoryant.sci@gmail.com^{ORCID}, <https://orcid.org/0000-0002-0819-7886>

³eboeva@fnkrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0422-5018>

⁴prof_dolgih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>

⁵oleg.grebenchikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9045-6017>

Abstract. The study aims to assess the effect of a two-hour inhalation with a krypton and oxygen mixture following the photo-induced cerebral infarction simulation on the manifestation of neurological deficits and the degree of brain injury in rats. The tests were conducted on male Wistar rats weighting 250 to 300 g (n = 20). Following photo-induced cerebral infarction simulation, the rodents underwent inhalation with a nitrogen and oxygen mixture N₂ 70%/O₂ 30% (group Nitrogen; n = 10) or a krypton and oxygen gas mixture Kr 70%/O₂ 30% (group Krypton; n = 10) for two hours. For the next 14 days, the rats were examined. On the 3rd, 7th, and 14th days, the authors performed a neurological test Limb placement, as well as euthanasia and brain removal for histological

and immunohistochemical examinations. It was determined that a two-hour inhalation with a krypton and oxygen gas mixture substantiated more prominent rehabilitation of rats' neurological states by the seventh day, as well as increased the reparation and regeneration of their injured brains.

Keywords: photo-induced cerebral infarction in rats, neuroprotection with krypton and oxygen gas mixture, brain reparation and regeneration

Code: 3.3.3. Pathophysiology.

For citation: Shumov I.V., Antonova V.V., Boeva E.A., Dolgikh V.T., Grebenchikov O.A. Neuroprotective properties of krypton in photo-induced cerebral infarction in rats. *Vestnik SurGU. Meditsina*. 2023;16(3):89–96. DOI 10.35266/2304-9448-2023-3-89-96.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении нескольких десятилетий растет интерес к применению инертных газов в медицинской практике, при этом если ксенон разрешен в клинической практике, то ряд близких по свойствам газов, таких как гелий, аргон, криптон, на сегодняшний день остаются малоизученными. Известно, что инертные газы не вступают в химические соединения с другими элементами периодической таблицы Менделеева, но оказывают биологические эффекты на живые организмы, поступая и покидая организм в неизменном виде [1].

Аргон в ряде доклинических исследований показал нейропротекторные свойства [2]. В недавних исследованиях были получены весьма противоречивые данные о нейропротективных свойствах аргона при черепно-мозговой травме (ЧМТ) [3, 4]. В модели ЧМТ *in vitro* аргон проявлял довольно выраженный нейропротективный эффект в течение первых 2 часов после очаговой механической травмы головного мозга.

Ксенон является единственным зарегистрированным в качестве лекарственного средства инертным газом, он используется в анестезиологии, кардиохирургии, лазерной хирургии, в лечении опиоидной зависимости [5–8]. Ксенон разрешен к применению в России в качестве анестетика с 1999 г., и многие проведенные за относительно небольшой срок исследования показали, что он также обладает органопротективными свойствами [9–13]. Эффекты ксенона, по мнению экспертов, опосредованы конкурентным ингибированием в глициновом участке рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA), хотя активация чувствительных к аденозинтрифосфату калиевых каналов или двупоровых калиевых каналов также может объяснить некоторые из его нейропротекторных эффектов.

Однако в клинической практике имеется ряд ограничений для внедрения ксенона как органопротектора в стандарты лечения: его высокая стоимость, невозможность применения за пределами реанимационного отделения за счет анестетических свойств и необходимости специального оборудования для его подачи, что весьма проблематично для использования при различных клинических ситуациях. Все это делает потенциальную пользу от применения ксенона практически недоступной пациентам, не требующим проведения искусственной вентиляции легких, но с недостаточным уровнем сознания для проведения сеанса ингаляции ксенона по закрытому контуру.

В связи с этим представляются перспективными для клинического применения другие инертные газы, возможно, обладающие нейропротективными свойствами, что и ксенон, но более дешевые и не требующие специального оборудования. Наиболее близким

к ксенону по анестетическим свойствам является криптон, стоимость которого в 15 раз меньше, чем ксенона.

Криптон – один из представителей инертных газов, не обладающий ни запахом, ни цветом, ни радиоактивными свойствами, плотнее воздуха в несколько раз. Его биологические свойства пока изучены недостаточно [14]. Было проведено несколько исследований, в которых криптон применялся в гипоксических газовых смесях с целью повышения выживаемости организма в условиях гипоксической гипоксии [14–17] в моделях *in vivo*. Крысы, прошедшие прекодиционирование в нормоксической газовой смеси, содержащей криптон 79%, легче переносили гипоксическую гипоксию с концентрацией кислорода, достигавшей всего 4%, в сравнении с контролем и аргон-кислородной смесью, а также присутствие криптона в гипоксической газовой смеси поддерживало потребление кислорода на уровне нормоксии [15]. Известно, что в нормобарических условиях криптон не обладает анестетическим эффектом [18], однако при повышенном давлении проявляет анестетический эффект, наблюдаемый у лабораторных животных и человека [18].

В единственном опубликованном исследовании *in vitro* с использованием культур кортикальных клеток мыши было показано, что 75%-я объемная концентрация аргона защищает от гипоксического/ишемического повреждения, но та же концентрация криптона (75%-й криптон и 25%-й кислород) не оказывают никакого эффекта [19]. На сегодняшний день в литературе опубликованы данные доклинических исследований о защитных эффектах ксенона и аргона при фокальной ишемии головного мозга. В то же время результаты исследований, показавших протекторные эффекты криптона при гипоксической гипоксии, позволяют надеяться на возможный нейропротекторный эффект криптона при фокальной ишемии головного мозга.

Цель – оценить влияние двухчасовой ингаляции криптон-кислородной смеси после моделирования фотоиндуцированного ишемического инсульта на выраженность неврологического дефицита и степень повреждения головного мозга у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Эксперименты проведены на 20 крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Накануне эксперимента животные не получали корм 8 часов, но имели свободный доступ к воде. Протокол исследования утвержден Локальным этическим комитетом Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабили-

тологии от 14 декабря 2022 г. № 3/22/3. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях. Животные были случайным образом разделены на 2 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств:

- контрольная группа с фотоиндуцированным ишемическим инсультом (ФИИ) + ингаляция N_2 70%/ O_2 30% (группа Азот; $n = 10$);

- опытная группа с ФИИ + ингаляция Kr 70%/ O_2 30% (группа Криптон; $n = 10$).

Моделирование фотоиндуцированного ишемического инсульта

После внутрибрюшинного введения 6%-го хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг моделировали фокальный ФИИ в сенсомоторной коре головного мозга крыс с помощью фотохимически индуцированного тромбоза сосудов коры головного мозга [20]. Светочувствительный краситель rose Bengal 3%, 40 мг/кг внутривенно (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США) вводили в яремную вену. После этого голова крысы была зафиксирована в стереотаксической рамке (стереотаксические координаты Bregma: 0,5 мм дистально и 2,5 мм латерально), череп был обнажен через разрез по средней линии и очищен от надкостницы. Затем полушарие мозга в области сенсомоторной коры облучали зеленым светом при $\lambda = 550$ нм в течение 15 мин. После наложения швов на кожу крыс помещали в клетку под инфракрасную нагревательную лампу до их выхода из наркоза. Температура тела во время всего эксперимента поддерживалась на уровне $37 \pm 0,5$ °C. Термометрия выполнялась путем установки ректального датчика температуры тела, а терморегуляция осуществлялась в автоматическом режиме путем соединения модуля обогрева с термореле и установкой пограничных значений.

Воздействие криптоном

После пробуждения животных помещали в прозрачную пластиковую камеру объемом 35 литров, в которую постоянно подавалась свежая газовая смесь с потоком 0,5 л/мин на одно животное: N_2 70%/ O_2 30% – группа Азот; Kr 70%/ O_2 30% – группа Криптон. Одновременно в камере находились не более 5 животных одной группы, что позволяло избежать гипоксии и гиперкапнии.

Время экспозиции в камере составило 2 часа. На протяжении всего эксперимента осуществляли непрерывный контроль уровня O_2 и CO_2 в камере с животными с использованием блока контроля атмосферы закрытых помещений (ЗАО «ИНСОВТ», СПб, Россия). После окончания экспозиции оценивали состояние 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: тест «Постановка конечности на опору (ПКО)»

Оценку неврологического статуса животных проводили на 3-й день (Д3), 7-й день (Д7) и 14-й день (Д14) после инсульта. Использовали протокол, основанный на методе, описанном M. De Ryck и соавт. [20] и модифицированном J. Jolkonen и соавт. [21]. Крыс приучали к рукам в течение недели до тестирования. Тест состоял из семи испытаний по оценке сенсомоторной интеграции передних и задних конечностей

крыс в ответ на тактильную, проприоцептивную и зрительную стимуляцию с представлением результатов в виде суммы баллов: испытание выполнено крысой нормально – 2 балла; испытание выполнено с промедлением (> 2 с) и/или не полностью – 1 балл; испытание не выполнено – 0 баллов.

Гистологическое исследование

Для гистологического исследования (определение структуры очага повреждения) у крыс на 14-е сутки после ЧМТ сразу же после эвтаназии (декапитация под анестезией хлоралгидратом 6%-м) забирали кусочки мозга и фиксировали в 4%-м забуференном формалине в течение 24 часов с последующим проведением по стандартной парафиновой проводке. Полученные фронтальные срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Нисслю. Морфометрию проводили после получения цифровых снимков на микроскопе «Nikon Eclipse Ni-U» (Япония) объективы: 4x, 10x, 20x 40x, камера DS-R12. Морфометрию осуществляли в программе NIS-Elements BR «Nikon» (Япония). Оценивали морфологические изменения в зоне инфаркта и пенумбры, а также площадь повреждения.

Иммуногистохимическое исследование

Для иммуногистохимического исследования использованы окраски на выявления Iba и NeuN антигенов. Срезы были депарафинизированы в ксилоле и дегидрированы в этиловом спирте. Высокотемпературную демаскировку проводили в цитратном буфере pH 6 (Target Retrieval Solution, DAKO, Глоструп, Дания). Срезы были охлаждены и трижды промыты в дистиллированной воде и трижды – в фосфатном буфере (PBS) с экспозицией по 5 мин (PBS IHC Wash Buffer + Tween, Cell Marque, Роклин, Калифорния, США). Для подавления эндогенной пероксидазы срезы выдерживали в 3%-м растворе перекиси водорода в течение 10 мин. Для предотвращения неспецифического связывания первичных или вторичных антител с белками тканей использовали Protein Block Serum-free (Abcam, Кембридж, Великобритания) с экспозицией 15 мин. Срезы были инкубированы при 37 °C в течение 1 часа с первичными антителами ab5076 1:500, ab68428 1:500 и ab177487 1:200, разведение в Antibody Diluent ab64211 (Abcam, Кембридж, Великобритания).

После срезы были отмыты в PBS дважды по 5 мин, определяя интенсивность реакции набором для детектирования ab64264 (Abcam, Кембридж, Великобритания), контрастировали гематоксилином, затем после промывания в проточной воде срезы дегидратировали и заключали под покровное стекло. Анализ проводили на микроскопе Nikon Eclipse Ni-e с помощью программного обеспечения NIS-Elements и ImageJ.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc., США) и GraphPad Prism. Нормальность распределения признака в выборках оценивали с использованием критерия Шапиро – Уилка. Все данные представлены как медиана (интерквартильный интервал). Статистические различия в данных, имевших 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 критерия Краскела – Уоллиса или U-теста Манна – Уитни для анализа не более двух групп. Критерием статистической значимости был уровень $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении 14 дней наблюдения животные из эксперимента не выводились, не было достижения гуманной конечной точки. Летальных исходов не было.

Данные неврологического осмотра по результатам теста ПКО представлены на рис. 1. Видно, что на третьи сутки наблюдения (рис. 1а) после моделирования

ФИИ значимой разницы суммы баллов теста ПКО не выявлено ($p = 0,4020$). В точке Д7 (рис. 1b) отмечалась значимая разница в группе Криптон ($p = 0,0245$), что может свидетельствовать о более быстрой реабилитации животных этой группы, но в точке Д14 (рис. 1c) значимой разницы в группах не выявлено ($p = 0,9544$).

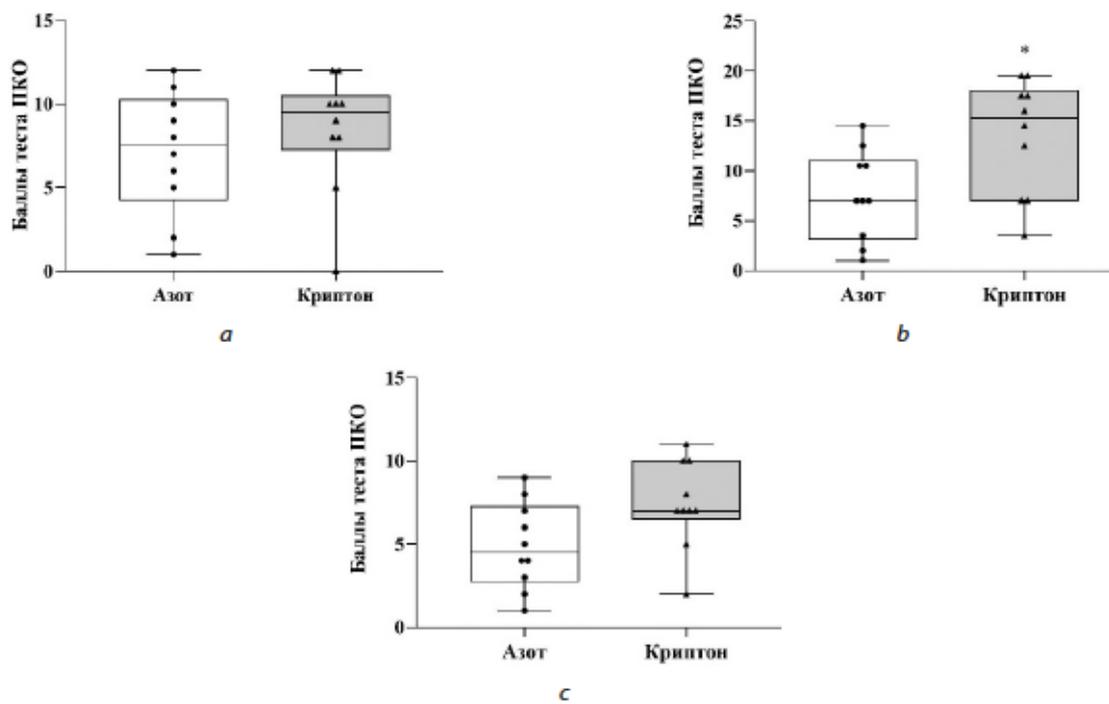


Рис. 1. Результаты теста «Постановка конечности на опору» после моделирования фотоиндуцированного ишемического инсульта: а) через 3 суток; б) через 7 суток; в) через 14 суток

Примечание: данные представлены в виде медиан и квартилей, * – $p < 0,05$.

В гистологических препаратах головного мозга животных группы Криптон отмечали полнокровные мягких оболочек мозга. Утолщения оболочек мозга не обнаружено. Наблюдали полнокровные новообразованных сосудов в зоне повреждения. Участок повреждения был представлен некротическим детритом с диффузным разрастанием соединительной ткани в виде ячеистой структуры, в которой располагались микроглиоциты.

Новообразованные сосуды обнаруживались как по периферии, так и в центре зоны повреждения. По периферии участка повреждения ткань головного мозга разрежена вследствие отека; в части препаратов отмечались кистоподобные образования без эпителиальной выстилки. В зоне пенумбры выявляли нейроны с признаками повреждения (темные нейроны, смещение ядра, смещение ядрышка, гиперхромные ядра, гипохромные ядра, набухшие ядра).

В группе Азот мягкие оболочки присутствовали на большинстве препаратов. Мягкие оболочки были частично отслоены, утолщены на всех препаратах. Сосуды полнокровны, встречались гиалинизированные. Центральная часть участка повреждения в коре была представлена гомогенно окрашенным участком некротического детрита, окруженным валом из глиальных клеток, макрофагов с зернистой цитоплазмой, пенистых клеток на разных стадиях апоптоза. Наблю-

дались полнокровные капилляры в зоне клеточного вала. На всех препаратах из группы Азот на периферии участка повреждения были выявлены пенистые клетки, глиальные клетки и новообразованные сосуды. В зоне пенумбры отмечены нейроны с признаками повреждения (темные нейроны, смещение ядра, смещение ядрышка, гиперхромные ядра, гипохромные ядра, набухшие ядра).

Принимая во внимание диффузное разрастание соединительной ткани, равномерное распределение микроглиоцитов в зоне повреждения, присутствие сосудов как в центре, так и по периферии участка повреждения, можно говорить о более выраженной регенерации на препаратах группы Криптон по сравнению с препаратами группы Азот, на которых не наблюдалось роста соединительной ткани. Микроглиоциты образовывали вал по периферии участка некротического детрита, также в этой зоне наблюдались пенистые клетки на разных стадиях альтерации (рис. 2).

Иммуногистохимическая окраска NeuN в препаратах обеих групп выявила нейроны на участке некроза коры головного мозга. В центре зоны повреждения также отмечены NeuN-позитивные клетки. В зоне организации нейроны не обнаружены. Вне пределов повреждения ядра и цитоплазма нейронов окрашены интенсивно.

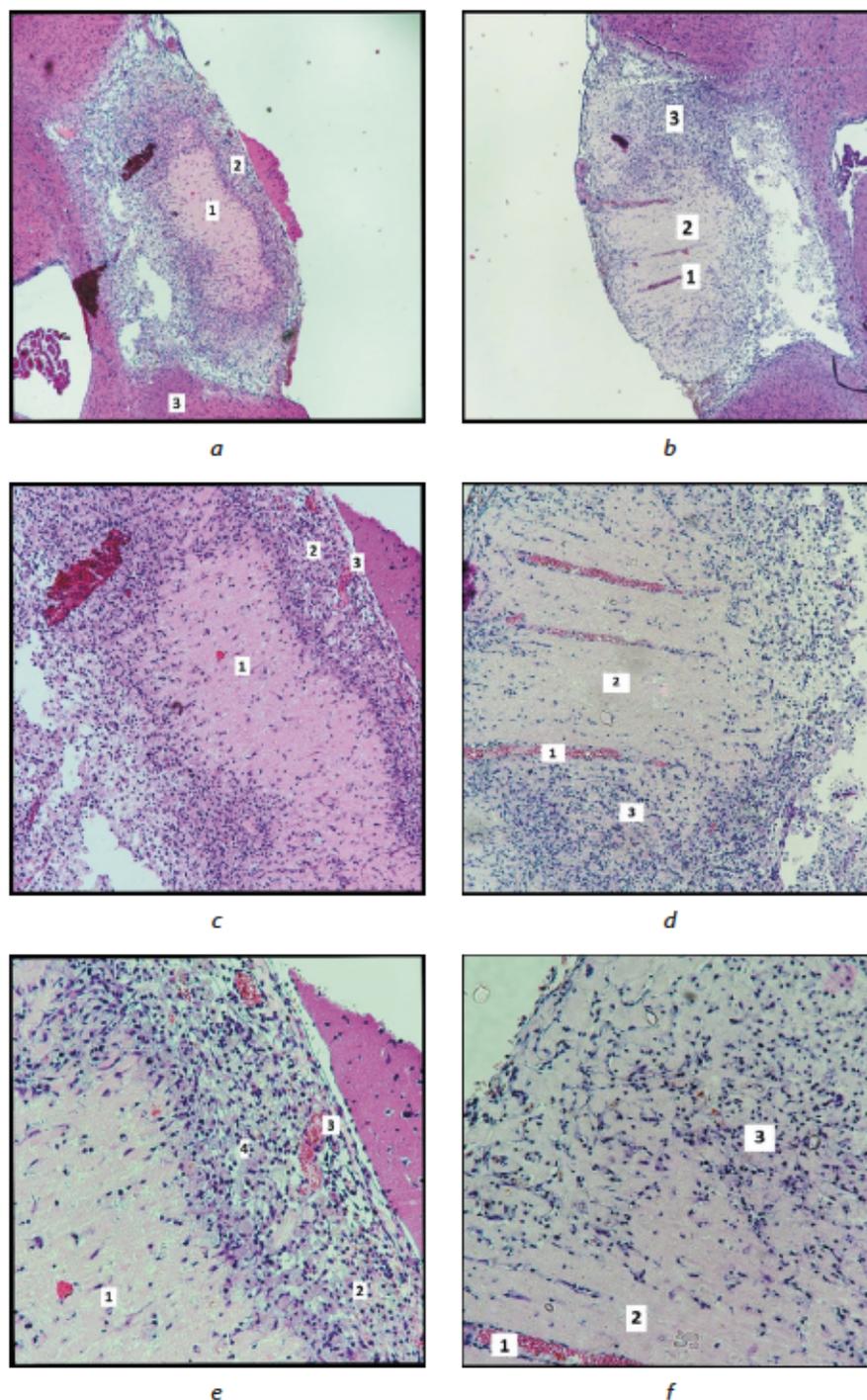


Рис. 2. Результаты гистологического исследования. Окраска гематоксилином и эозином:
 а) Азот X4: 1 – участок повреждение с некротическим детритом, 2 – зона глиально-макрофагального вала, 3 – вещество головного мозга;
 с) Азот X10: 1 – участок повреждение с некротическим детритом, 2 – зона глиально-макрофагального вала, 3 – новообразованный сосуд;
 е) Азот X20: 1 – участок повреждение с некротическим детритом, 2 – зона глиально-макрофагального вала, 3 – новообразованный сосуд, 4 – пенистые клетки;
 b, d, f – Криптон: 1 – новообразованный сосуд, 2 – участок повреждения с некротическим детритом, 3 – зона регенерации с ростом соединительной ткани и новообразованных сосудов

Иммуногистохимическое выявление маркера микроглии в Iba в группе Азот выявило небольшое число клеток микроглии, локализовавшихся в зоне некроза. В зоне организации некроза также обнаружены малочисленные клетки микроглии. В группе Криптон выявлено большое количество диффузно распространенных Iba-позитивных клеток как в зоне некроза, так и в зоне организации некроза.

Иммуногистохимическое выявление GFAP, являющегося маркером астроцитов, показало, что GFAP-позитивные клетки в обеих группах располагались с внешней стороны зоны организации некроза на границе с тканью головного мозга. Результаты представлены на рис. 3.

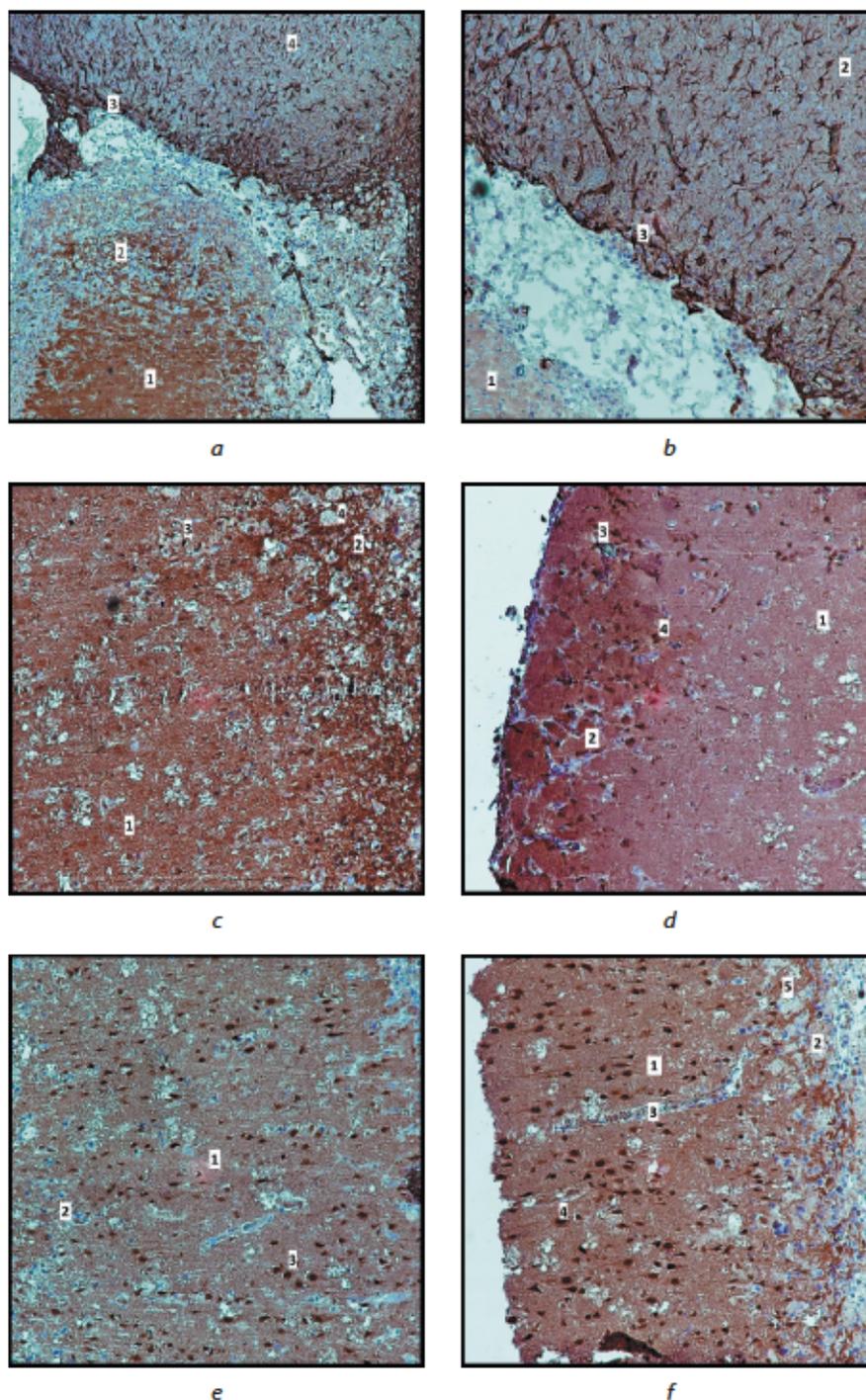


Рис. 3. Результаты иммуногистохимического исследования:

- a) Азот GFAP: 1 – участок повреждения с некротическим детритом, 2 – участок с признаками организации, 3 – положительно окрашенные GFAP астроциты, 4 – вещество мозга;
- b) Криптон GFAP: 1 – участок повреждения с признаками организации (фибробласты), 2 – участок вещества мозга, 3 – позитивно окрашенные GFAP астроциты;
- c) Азот Iba: 1 – участок повреждения с некротическим детритом, 2 – участок с признаками организации, 3 – микроглиоциты позитивно окрашенные Iba, 4 – пенстые клетки;
- d) Криптон Iba: 1 – участок повреждения с некротическим детритом, 2 – участок с признаками организации (фибробласты, глиальные клетки), 3 – новообразованный сосуд, 4 – микроглиоцит позитивно окрашенный Iba;
- e) Азот NeuN: 1 – участок повреждения с некротическим детритом, 2 – участок с признаками организации, 3 – нейроны позитивно окрашенные NeuN;
- f) Криптон NeuN: 1 – участок повреждения с некротическим детритом, 2 – участок с признаками организации (фибробласты, микроглиоциты, макрофаги), 3 – новообразованный сосуд, 4 – нейрон с положительной окраской NeuN, 5 – пенстые клетки с включениями позитивно окрашенных NeuN частиц

Результаты исследования показали, что инертный газ криптон обладает нейропротективными свойствами в отношении фокального ишемического повреждения головного мозга, что в целом согласуется с ранее отмеченными данными об оказании протективного эффекта инертных газов в условиях гипоксической гипоксии [14].

На модели ФИИ, в основе которой лежит фокальное повреждение эндотелиальной выстилки сосудов коры головного мозга крысы, была показана более быстрая адаптация и организация данной области, о чем свидетельствуют как результаты гистологического и иммуногистохимического исследования, так и клинические данные – тест ПКО. По данным неврологического осмотра, отмечается тенденция в виде быстрой регрессии неврологического дефицита к 7-м суткам наблюдения в группе Криптон, а также его прогрессирование к 14-м суткам наблюдения, что может свидетельствовать как о нестабильности воздействия криптона при отсутствии повторных ингаляций, так и о присоединении инфекционных осложнений в подострой стадии ишемического инсульта, что требует дальнейших исследований данного феномена. Однако нельзя не отметить, что в группе Азот клиническая картина сильно отличается и имеет стабильно прогрессирующую кривую неврологического дефицита с третьих по 14-е сутки наблюдения.

Данные морфологических исследований (гистологического и иммуногистохимического) головного мозга показали, что в группе Криптон отмечается значимое ускорение процессов репарации и организации очага ишемии и зоны пенумбры. Об активации процессов регенерации свидетельствует более быстрый по сравнению с группой Азот регенеративный процесс, формирование рубца (разрастание соединительной ткани), сосудобразование в зоне некроза. В группе Азот, напротив, отмечается тенденция

к отграничению очага ишемии с формированием клеточного вала на периферии и некротического очага в центре, что свидетельствует о начале формирования кистозно-глиозного образования на месте инфаркта мозга. На данном этапе наблюдения сложно прогнозировать, какая часть нейронов погибнет, а какая способна восстановить свое функциональное состояние, но, на первый взгляд, реабилитационный потенциал на порядок выше в группе Криптон. Для получения более точных данных по восстановлению после перенесенного инсульта требуется пролонгация этапа наблюдения после инициации острого нарушения мозгового кровообращения.

Полученные нами обнадеживающие данные, а также результаты многочисленных исследований о нейропротективных эффектах инертных газов, таких как ксенон, аргон [1, 22], говорят о необходимости и актуальности проведения доклинических исследований в области применения газовых смесей на основе криптона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Двухчасовая ингаляция криптон-кислородной смесью Kr 70%/O₂ 30% оказывает нейропротективный эффект при фотоиндуцированном ишемическом инсульте, что выражается в положительной динамике неврологического статуса (тест «Постановка конечности на опору») на 7-е сутки наблюдения и более выраженных процессах репарации и регенерации, по данным гистологического и иммуногистохимических исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Yin H., Chen Z., Zhao H. et al. Noble gas and neuroprotection: From bench to bedside. *Front Pharmacol.* 2022;13:1028688.
2. Боева Е.А., Силачев Д.Н., Якупова Э.И. и др. Изучение нейропротективного эффекта ингаляции аргон-кислородной смеси после фотоиндуцированного ишемического инсульта // *Общая реаниматология.* 2023. Т. 19, №3. С. 46–53.
3. Moro F., Fossi F., Magliocca A. et al. Efficacy of acute administration of inhaled argon on traumatic brain injury in mice. *Br J Anaesth.* 2021;126(1):256–264.
4. Creed J., Cantillana-Riquelme V., Yan B.H. 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.
5. Наумов С.А., Шписман М.Н., Наумов А.В. и др. Роль ксенона в лечении опиоидной наркомании // *Вопросы наркологии.* 2002. №6. С. 13–17.
6. Лазарев Н.В., Люблина Е.И., Мадорская Р.Я. О наркотическом действии ксенона // *Физиологический журнал СССР.* 1948. Т. XXXIV, №1. С. 131–134.
7. Shen X., Purser C., Tien L.T. et al. μ -Opioid receptor knockout mice are insensitive to methamphetamine-induced behavioral sensitization. *J Neurosci Res.* 2010;88(10):2294–2302.
8. Chen J.C., Liang K.W., Huang E.Y. Differential effects of endomorphin-1 and -2 on amphetamine sensitization: Neurochemical and behavioral aspects. *Synapse.* 2001;39(3):239–248.
9. Гребенчиков О.А., Евсеев А.К., Кулабухов В.В. и др. Нейропротективные эффекты ингаляционной седации ксеноном в сравнении с внутривенной седацией пропофолом при тяжелом ишемическом инсульте // *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь».* 2022. Т. 11, №4. С. 561–572.

REFERENCES

1. Yin H., Chen Z., Zhao H. et al. Noble gas and neuroprotection: From bench to bedside. *Front Pharmacol.* 2022;13:1028688.
2. Boeva E. A., Silachev D. N., Yakupova E. I. et al. Experimental study of neuroprotective properties of inhaled argon-oxygen mixture in a photoinduced ischemic stroke model. *General Reanimatology.* 2023;19(3):46–53. (In Russian).
3. Moro F., Fossi F., Magliocca A. et al. Efficacy of acute administration of inhaled argon on traumatic brain injury in mice. *Br J Anaesth.* 2021;126(1):256–264.
4. Creed J., Cantillana-Riquelme V., Yan B.H. 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.
5. Naumov S. A., Shpisman M. N., Naumov A. V. et al. Role of xenon in the treatment of opioid addiction. *Journal of Addiction Problems.* 2002;6(1):13–17. (In Russian).
6. Lazarev N. V., Lyublina E. I., Madorskaya R. Ya. O narcoticheskom deistvii ksenona. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR.* 1948;34(1):131–134. (In Russian).
7. Shen X., Purser C., Tien L. T. et al. μ -Opioid receptor knockout mice are insensitive to methamphetamine-induced behavioral sensitization. *J Neurosci Res.* 2010;88(10):2294–2302.
8. Chen J. C., Liang K. W., Huang E. Y. Differential effects of endomorphin-1 and -2 on amphetamine sensitization: Neurochemical and behavioral aspects. *Synapse.* 2001;39(3):239–248.
9. Grebenchikov O. A., Evseev A. K., Kulabukhov V. V. et al. Neuroprotective effects of inhaled xenon for sedation compared with propofol intravenous sedation in severe ischemic stroke. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care".* 2022;11(4):561–572. (In Russian).

10. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R. et al. 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):1137–1148.
11. Шпичко А.И., Кузовлев А.Н., Черпаков Р.А. и др. Новая стратегия лечения пациентов с длительным нарушением сознания с применением ксенона. Проспективное пилотное исследование // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2022. Т. 11, № 4. С. 592–599.
12. Campos-Pires R., Hirnet T., Valeo F. 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.
13. Ершов А.В., Крюков И.А., Антонова В.В. и др. Влияние ксенона на активность гликоген-синтазы киназы-3 β в перифокальной зоне ишемического инсульта: экспериментальное исследование // Общая реаниматология. 2023. Т. 19, № 2. С. 60–67.
14. Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., Тюрин-Кузьмин А.Ю. и др. Устойчивость к гипоксической гипоксии после предварительного воздействия нормоксических дыхательных смесей, содержащих аргон или криптон // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2021. Т. 55, № 3. С. 74–80. DOI 10.21687/0233-528X-2021-55-3-74-80.
15. Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., Тюрин-Кузьмин А.Ю. и др. Комплексная мониторинговая оценка кардиореспираторной системы и газообмена подопытных животных при дыхании гипоксическими дыхательными смесями, содержащими инертные газы // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53, № 5. С. 65–76. DOI 10.21687/0233-528X-2019-53-5-65-76.
16. Ананьев В.Н. Влияние инертных газов аргона и криптона на поглощение кислорода в замкнутом пространстве у крыс // Фундаментальные исследования. 2012. № 1. С. 11–13.
17. Ананьев В.Н. Механизмы гипобииоза при действии аргона и криптона на поглощение кислорода в замкнутом пространстве // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2013. Т. 8, № 1. С. 330–336.
18. Куссмауль А.Р., Богачева М.А., Шкурят Т.П. и др. Влияние дыхательных сред, содержащих ксенон и криптон, на клинико-биохимические показатели крови животных // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2007. Т. 41, № 2. С. 60–63.
19. Jawad N., Rizvi M., Gu J. et al. Neuroprotection (and lack of neuroprotection) afforded by a series of noble gases in an in vitro model of neuronal injury. *Neurosci Lett*. 2009;460(3):232–236.
20. De Ryck M., Van Reempts J., Borgers M. et al. Photochemical stroke model: Flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats. *Stroke*. 1989;20(10):1383–1390.
21. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S. et al. Behavioral effects of the alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *Eur J Pharmacol*. 2000;400(2-3):211–219.
22. Wang Y.Z., Li T.T., Cao H.L. et al. Recent advances in the neuroprotective effects of medical gases. *Med Gas Res*. 2019;9(2):80–87.
10. Harris K., Armstrong S.P., Campos-Pires R. et al. 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):1137–1148.
11. Shpichko A.I., Kuzovlev A.N., Cherpakov R.A. et al. A new strategy for the treatment of patients with prolonged impairment of consciousness using xenon. Prospective pilot study. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2022;11(4):592–599. (In Russian).
12. Campos-Pires R., Hirnet T., Valeo F. 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.
13. Ershov A.V., Kryukov I.A., Antonova V.V. et al. The effect of xenon on the activity of glycogen synthase kinase-3 β in the perifocal zone of ischemic cerebral infarction (experimental study). *General Reanimatology*. 2023;19(2):60–67. (In Russian).
14. Soldatov P.E., Shulagin Yu.A., Tyurin-Kuzmin A.Yu. et al. Endurance of hypoxic hypoxia after preliminary breathing of normoxic mixtures containing argon or krypton. *Aerospace and Environmental Medicine*. 2021;55(3):74–80. DOI 10.21687/0233-528X-2021-55-3-74-80. (In Russian).
15. Soldatov P.E., Shulagin Yu.A., Tyurin-Kuzmin A.Yu. et al. Complex monitoring-based evaluation of the cardiorespiratory system and gas exchange in laboratory animals breathing hypoxic breathing mixtures containing inertial gasses. *Aerospace and Environmental Medicine*. 2019;53(5):65–76. DOI 10.21687/0233-528X-2019-53-5-65-76. (In Russian).
16. Ananov V.N. Effect of inert gases on argon and krypton absorption of oxygen in the closed space in rats. *Fundamental Research*. 2012;(1):11–13. (In Russian).
17. Ananov V.N. Mekhanizmy gipobioza pri deistvii argona i kriptonita na pogloshchenie kisloroda v zamknutom prostranstve. *Zdorove – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniia*. 2013;8(1):330–336. (In Russian).
18. Kussmaul A.R., Bogacheva M.A., Shkurat T.P. et al. Effects of xenon and krypton-containing breathing mixtures on clinical and biochemical blood indices in animals. *Aerospace and Environmental Medicine*. 2007;41(2):60–63. (In Russian).
19. Jawad N., Rizvi M., Gu J. et al. Neuroprotection (and lack of neuroprotection) afforded by a series of noble gases in an in vitro model of neuronal injury. *Neurosci Lett*. 2009;460(3):232–236.
20. De Ryck M., Van Reempts J., Borgers M. et al. Photochemical stroke model: Flunarizine prevents sensorimotor deficits after neocortical infarcts in rats. *Stroke*. 1989;20(10):1383–1390.
21. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S. et al. Behavioral effects of the alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *Eur J Pharmacol*. 2000;400(2-3):211–219.
22. Wang Y.Z., Li T.T., Cao H.L. et al. Recent advances in the neuroprotective effects of medical gases. *Med Gas Res*. 2019;9(2):80–87.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**И. В. Шумов** – соискатель ученой степени.**В. В. Антонова** – младший научный сотрудник.**Е. А. Боева** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник.**В. Т. Долгих** – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник.**О. А. Гребенчиков** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник.**INFORMATION ABOUT THE AUTHORS****I. V. Shumov** – Candidate for Scientific Degree.**V. V. Antonova** – Junior Researcher.**E. A. Boeva** – Candidate of Sciences (Medicine), Leading Researcher.**V. T. Dolgikh** – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Researcher.**O. A. Grebenchikov** – Doctor of Sciences (Medicine), Chief Researcher.