

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616-092.9

**Боева Е.А.<sup>1</sup>, Сутормин М.В.<sup>2</sup>, Антонова В.В.<sup>1</sup>, Любомудров М.А.<sup>1</sup>, Черпаков Р.А.<sup>1</sup>, Лобанов А.В.<sup>3</sup>, Кузовлев А.Н.<sup>1</sup>, Гребенчиков О.А.<sup>1</sup>****Изучение нейропротективного действия аргон-кислородной смеси при ингаляции через 24 часа после ишемического инсульта**<sup>1</sup>«НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФГБНУ «ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии», 107031, Москва, Россия, ул. Петровка, д. 25, стр. 2;<sup>2</sup>ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, Россия, ул. Щепкина, д. 61/2;<sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

**Введение.** В исследованиях на животных показано, что добавление аргона в дыхательную смесь увеличивает выживаемость животных при моделировании гипоксии и ишемии головного мозга. Важными факторами, влияющими на восстановление клеток после ишемических повреждений, являются время воздействия и дозировка аргона. Исследование нейропротективного эффекта аргона через сутки после моделирования инсульта у животных предоставит данные о целесообразности проведения подобной отсроченной терапии. **Цель:** в проведенном исследовании оценивали влияние трехкратной 2-х часовой ингаляции аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) через 24 ч после фотохимически индуцированного инсульта на выраженность неврологического дефицита, объем повреждения головного мозга.

**Методика.** Эксперименты были проведены на крысах-самцах Wistar весом 250–300 г (n=14). Животные были случайным образом разделены на 3 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств: контрольная группа с ишемией + ингаляция N<sub>2</sub> 70%/O<sub>2</sub> 30% (Ишемия), n=5; опытная группа с ишемией + ингаляция Ar 70%/O<sub>2</sub> 30% (Ишемия+Ar), n=6, группа ложнооперированных животных (группа ЛО), n=3. Неврологический статус оценивали в течение 14 дней (тест «Постановка конечности на опору»). Магнитно-резонансная томография (МРТ) и иммуногистохимическое исследование выполнялись через 14 суток после ишемии.

**Результаты.** Статистически значимых различий между экспериментальными группами не получено. Средний объем повреждения в группе Ишемия+Ar и группе Ишемия составил 19,5 (16,5; 22,7) mm<sup>3</sup> и 22,0 (18,0; 23,7) mm<sup>3</sup>, соответственно (p=0,12). При оценке площади vWF-позитивной окраски в группах отмечается тенденция к увеличению площади в группе Ишемия+Ar по сравнению с группой Ишемия (0,18 (0,15; 0,20) mm<sup>2</sup> против 0,16 (0,14; 0,18) mm<sup>2</sup>, p=0,054). При определении Cas-3-положительных клеток отмечается снижение Cas-3 позитивных клеток в группе Ишемия+Ar 10384 (9586; 12685) в сравнении с группой Ишемия 13856 (11548; 18295) (p=0,068).

**Заключение.** Таким образом, трехкратная 2-х часовая ингаляция аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) через 24 часа после фотохимически индуцированного инсульта не снижает выраженность неврологического дефицита, не уменьшает объем повреждения.

**Ключевые слова:** аргон-кислородная смесь; ишемия; нейропротективные свойства; фотохимически индуцированный инсульт

**Для цитирования:** Боева Е.А., Сутормин М.В., Антонова В.В., Любомудров М.А., Черпаков Р.А., Лобанов А.В., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А. Нейропротективный потенциал аргон-кислородной смеси после ингаляции через 24 часа на модели фотоиндуцированного ишемического инсульта у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(2): 38–45.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Сутормин М.В.; сбор и обработка материала – Боева Е.А., Сутормин М.В., Антонова В.В., Любомудров М.А.; подготовка иллюстративного материала – Боева Е.А., Черпаков Р.А.; написание текста – Боева Е.А.; редактирование – Гребенчиков О.А., Лобанов А.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Боева Екатерина Александровна, e-mail: eboeva@fnkcr.ru

**Финансирование.** Исследование было выполнено в рамках ГЗ № 075-00479-24-04 по теме НИР «Молекулярные механизмы действия инертных газов при тяжелых повреждениях головного мозга и клинично-экспериментальное обоснование применения их нейроцитопротективных свойств в анестезиологии-реаниматологии».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.02.2025

Принята к печати 20.03.2025

Опубликована 20.06.2025

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

Boeva E.A.<sup>1</sup>, Sutormin M.V.<sup>2</sup>, Antonova V.V.<sup>1</sup>, Lyubomudrov M.A.<sup>1</sup>, Cherpakov R.A.<sup>1</sup>, Lobanov A.V.<sup>3</sup>, Kuzovlev A.N.<sup>1</sup>, Grebenchikov O.A.<sup>1</sup>

## The neuroprotective effect of argon-oxygen mixture inhalation 24 hours after ischemic stroke

<sup>1</sup>Federal Research and Clinical Center of intensive care medicine and rehabilitation, 25, p. 2, Petrovka str., Moscow, 107031, Russian Federation;

<sup>2</sup>Moscow Regional Research and Clinical Institute, 61/2 Shchepkina str., Moscow, 129110, Russian Federation;

<sup>3</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russian Federation

**Introduction.** Animal studies have shown that adding argon to the breathing mixture increases the survival of animals in models of cerebral hypoxia and ischemia. The important factors affecting the cell recovery after ischemic injury are the exposure time and dosage of argon. Studying the neuroprotective effect of argon 24 hours after the onset of stroke in an animal model will provide data on the feasibility of such delayed therapy. **Aim.** The study assessed the effect of three 2-hour inhalations of an argon-oxygen mixture (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) 24 hours after photochemically induced stroke on the severity of neurological deficit and the volume of brain injury.

**Methods.** The experiments were performed on male Wistar rats weighing 250–300 g ( $n=14$ ). The animals were randomly divided into 3 groups based on the extent of the intervention: control group with ischemia + inhalation of N<sub>2</sub> 70%/O<sub>2</sub> 30% or Ischemia group,  $n=5$ ; experimental group with ischemia + inhalation of Ar 70%/O<sub>2</sub> 30% (Ischemia+iAr group),  $n=6$ , and group of sham-operated animals (SO group),  $n=3$ . Neurological status was followed up for 14 days (limb support test). Magnetic resonance imaging (MRI) and immunohistochemistry were performed at 14 days after ischemia.

**Results.** No statistically significant differences were found between the experimental groups. The mean volume of injury in the Ischemia+iAr group and Ischemia group was 19.5 (16.5; 22.7) mm<sup>3</sup> and 22.0 (18.0; 23.7) mm<sup>3</sup>, respectively ( $p=0.12$ ). The area of vWF-positive staining in the Ischemia+iAr group was somewhat greater than in the Ischemia group (0.18 [0.15; 0.20] vs. 0.16 [0.14; 0.18],  $p=0.054$ ); however, the difference was not significant. The number of Cas-3-positive cells was decreased in the Ischemia+iAr group (10384 [9586; 12685]) compared to the Ischemia group (13856 [11548; 18295],  $p=0.068$ ).

**Conclusion.** Three-time 2-hour inhalation of the argon-oxygen mixture (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) 24 hours after photochemically induced stroke does not reduce the severity of neurological deficit or reduce the volume of injury.

**Keywords:** argon-oxygen mixture; ischemia; neuroprotective properties; photochemically induced stroke

**For citation:** Boeva E.A., Sutormin M.V., Antonova V.V., Lyubomudrov M.A., Cherpakov R.A., Lobanov A.V., Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A. The neuroprotective effect of argon-oxygen mixture inhalation 24 hours after ischemic stroke. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(2): 38–45. (in Russian)

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

**Author's contribution:** concept and design of the study – Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Sutormin M.V.; collection and processing of material – Boeva E.A., Sutormin M.V., Antonova V.V., Lyubomudrov M.A.; preparation of illustrative material – Boeva E.A., Cherpakov R.A.; writing the text – Boeva E.A.; editing the text – Grebenchikov O.A., Lobanov A.V. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

**For correspondence:** Ekaterina A. Boeva, leading researcher, V.A. Negovskii Research Institute of General Resuscitation, Federal Scientific and Clinical Center of resuscitation and rehabilitation, e-mail: eboeva@fncrr.ru

### Information about the authors:

Boeva E.A., <https://orcid.org/0000-0002-0422-5018>

Cherpakov R.A., <https://orcid.org/0000-0002-0514-2177>

Lobanov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5159-3227>

Kuzovlev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-5930-0118>

Grebenchikov O.A., <https://orcid.org/0000-0001-9045-6017>

**Financing.** The study was performed within the framework of GP No. 075-00479-24-04 on the research topic "Molecular mechanisms of action of inert gases in severe brain damage and clinical and experimental substantiation of the use of their neurocytoprotective properties in anesthesiology and intensive care".

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

Received: 05.02.2025

Accepted: 20.03.2025

Published: 20.06.2025

## Введение

## Методика

Ишемический инсульт (ИИ) занимает ключевое место среди цереброваскулярных заболеваний, приводя к инвалидности и смертности по всему миру [1]. Основным механизмом патофизиологии ишемического инсульта связан с резким снижением кровотока из-за закупорки церебральной артерии, что приводит к гипоксии и гибели мозговых клеток. Прекращение кровоснабжения пораженного участка мозга приводит к истощению энергетических запасов, что нарушает работу ионных насосов мембраны клеток и запускает цепь патологических реакций. Это вызывает деполяризацию нейронов и активирует биохимические каскады, которые приводят к повреждению и гибели клеток [2].

Впервые нейропротекторное действие аргона было описано российскими учеными. Они установили, что добавление аргона в дыхательную смесь увеличивало выживаемость животных при гипоксии. П.Э. Солдатов и коллеги показали, что аргон в концентрациях от 25% до 77% значительно повышает выживаемость экспериментальных животных в условиях недостатка кислорода [3].

Многочисленные исследования были посвящены изучению концентрации аргона и длительности его воздействия на модели ишемического инсульта. Однако их результаты остаются противоречивыми, так как зависят от множества факторов, таких как тип модели ишемии, используемый анестетик, вид лабораторных животных и другие особенности эксперимента [4–8].

Исследования показывают, что аргон оказывает выраженное защитное действие на клетки при соблюдении определенной продолжительности и концентрации воздействия; при этом эффективность его применения зависит от времени экспозиции. В моделях ишемии сетчатки аргон вводили в течение часа сразу после повреждения или через 1,5 и 3 часа. Немедленное введение показало наибольший нейропротекторный эффект, при этом с увеличением задержки эффективность снижалась. При отсрочке на 3 часа и низких концентрациях аргон становился менее эффективным. Эти данные подчеркивают важность времени введения и дозировки аргона для восстановления клеток после ишемических повреждений [9].

Таким образом, учитывая противоречивые результаты проводимых исследований, а также вероятность отсроченной терапии в отдаленных регионах, целью нашего исследования было оценить оказывает ли аргон-кислородная смесь нейропротективный эффект при трехкратной 2-часовой ингаляции через 24 часа после модели фотоиндуцированного ишемического инсульта.

Эксперименты были проведены на крысах-самцах Wistar весом 250–300 г ( $n=14$ ). За 8 часов 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.

Животные были случайным образом разделены на 3 группы в зависимости от объема проводимых вмешательств:

- контрольная группа с инсультом + ингаляция  $N_2$  70%/O<sub>2</sub> 30% (Ишемия),  $n=5$ ;
- опытная группа с инсультом + ингаляция Ar 70%/O<sub>2</sub> 30% (Ишемия+iAr),  $n=6$ ;
- ложно-оперированные животные, которым проводили анестезию, подготовительные мероприятия без инсульта + ингаляция  $N_2$  70%/O<sub>2</sub> 30% (группа ЛО),  $n=3$ .

*Моделирование фотоиндуцированного ишемического инсульта.* Модель воспроизводили после введения 6% хлоралгидрата (300 мг/кг, внутривенно) по методике [10]. После восстановления сознания и способности самостоятельной терморегуляции животное обезболивали (парацетамол 50 мг/кг п/к) и помещали в клетку с предоставлением свободного доступа к воде и пище. Через 24 часа проводился неврологический тест «Постановка конечности на опору» (ПКО), далее животное помещалось в камеру, в которую постоянно подавалась свежая газовая смесь ( $N_2$  70%/O<sub>2</sub> 30%) – группа Ишемия, Ar 70%/O<sub>2</sub> 30% – группа Ишемия+iAr с потоком 3 л/мин (не менее 0,5 л/мин/животное). На дно камеры насыпали небольшое количество стандартного древесного подстилка для обеспечения дренажа биологических жидкостей. Время экспозиции в камере – 2 часа. После окончания периода экспозиции проводилась оценка общего состояния животного (уровень бодрствования, подвижность) и обезболивание (парацетамол 50 мг/кг п/к). Затем животное помещали в клетку с предоставлением свободного доступа к воде и пище. Во время всего эксперимента осуществлялся непрерывный контроль уровня O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> в камере с животными с использованием мультигазового датчика концентрации кислорода и инертных газов ООО «Инерт-Газ Медикал». Через 48 часов крыс повторно помещали в камеру для ингаляции в течение 2 часов, через 72 часа от начала эксперимента процедуру повторяли.

*Оценка неврологического статуса.* Тест «Постановка конечности на опору (ПКО)» проводили на 1-, 4-, 7- и 14-

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

сутки после моделирования ишемии. Использовали протокол, основанный на методике, описанной М. De Ryck и соавт. [11] и модифицированный J. Jolkkonen и соавт. [12].

**Оценка объема повреждения мозга.** Исследование при помощи магнитно-резонансной томографии проводили на 14-е сутки после моделирования инсульта у крыс на томографе с индукцией магнитного поля 7 Тл и градиентной системой 105 мТл/м (BioSpec 70/30, Bruker, Германия). Анестезия выполнялась изофлураном (1,5–2 об %). Использовали стандартный протокол исследования мозга крысы, который включает в себя получение T2-взвешенных изображений. 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 x 0,164 мм/пиксел. Общее время сканирования одного животного составляло около 25 мин. Объем повреждения головного мозга оценивали с помощью графического анализа полученных изображений с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health image software, Bethesda, MD, США).

**Иммуногистохимическое исследование.** Для иммуногистохимического исследования мозг крыс был зафиксирован в 10% формалине, заключен в парафин и приготовлены срезы толщиной 4 мкм. Срезы были депарафинизированы в ксилоле, и регидрированы в батерее этилового спирта. Высокотемпературная демаскировка проводилась в цитратном буфере, pH 6 (Target Retrieval Solution, DAKO, Glostrup, Denmark). Срезы были охлаждены, трижды промыты в фосфатном буфере (PBS IHC Wash Buffer + Tween, Cell Marque, Rocklin, CA, USA) с экспозицией по 5 минут. Для подавления эндогенной пероксидазы срезы были выдержаны в 3% перекиси водорода в течение 10 мин. Для предотвращения неспецифического связывания первичных или вторичных антител с белками тканей, использовался (Protein Block Serum-free, Abcam, Cambridge, UK) с экспозицией 30 мин. Срезы были инкубированы при 37°C в течение 1 часа с первичными антителами к Anti Caspase-3 (ab13847 1:100) и anti Von Willebrand factor (ab 9378 1:200) разведенных в Antibody Diluent ab64211, Abcam, Cambridge, UK). Антитела были выбраны с целью оценки апоптотических процессов (Anti Caspase-3), процессов ангиогенеза (anti Von Willebrand factor). Затем срезы были отмыты в PBS дважды по 5 минут. После промывания срезов в PBS, они были контрастированы гематоксилином, отмыты в проточной воде, дегидратированы и заключены в среду заключения. Вторичные антитела Dako REAL EnVision Detection System (DAB Dako Antibody Diluent) или ImmPACT® Vector® Red Substrate Kit, Alkaline Phosphatase (AP) (SK-5105) использовались в соответ-

ствии с протоколом производителя. Срезы окрашивали гематоксилином в течение 1–2 мин, затем дегидратировали в 70%, 96%, 100% спирте и дважды просветляли в ксилоле.

**Статистический анализ.** Результаты обрабатывали в программе GraphPad Prism 8.0. Нормальность распределения признака в выборках оценивали по критерию Шапиро – Уилка. Данные представлены в виде mean±SD (в случае нормального распределения) и в виде медианы и интерквартильного интервала (в случае ненормального распределения). Статистические различия в данных, имеющих хотя бы в одной из групп распределение, отличное от нормального, оценивали по *U* критерию Манна – Уитни, а также с применением ANOVA для анализа более двух групп. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0.05$ .

## Результаты

**Неврологическая оценка. Тест постановки конечностей на опору (ПКО).** В каждой из временных точек сумма баллов за ПКО у животных обеих экспериментальных групп была меньше, чем в группе ЛО. Статистически значимых различий между группами Ишемия и Ишемия+iAg не получено (**рис. 1**).

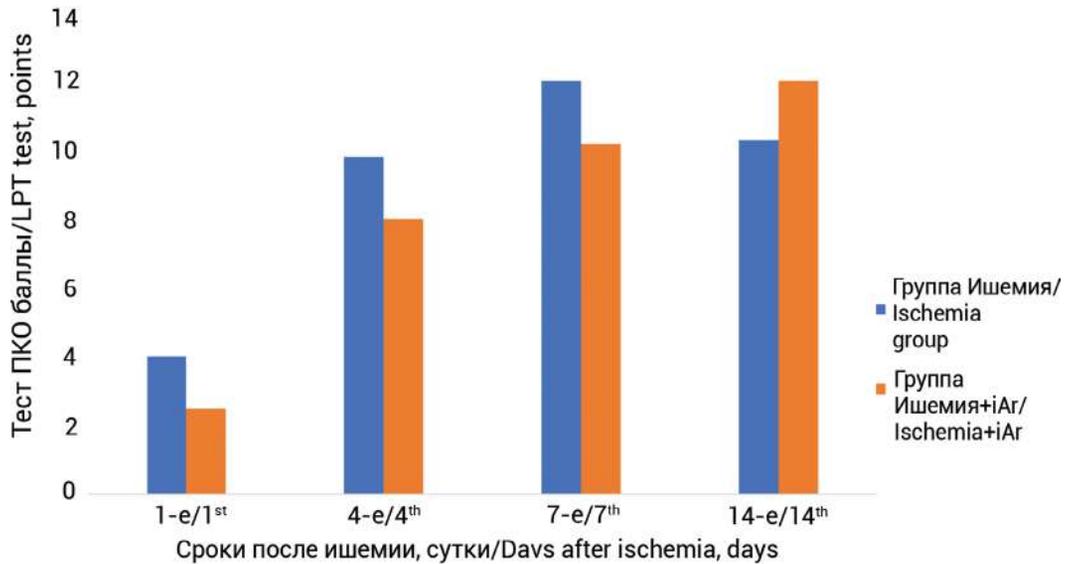
**МРТ исследование головного мозга.** Средний объем повреждения в группе Ишемия и группе Ишемия+iAg составил 22,0 (18,0;23,7) mm<sup>3</sup> и 19,5 (16,5;22,7) mm<sup>3</sup>, соответственно. Статистически значимых различий не получено ( $p=0,12$ ) (**рис. 2**).

Площадь vWF-позитивной окраски в группе Ишемия+iAg была несколько больше, чем в контрольной группе 0,18 (0,15; 0,20) mm<sup>2</sup> против 0,16 (0,14; 0,18) mm<sup>2</sup> ( $p=0,054$ ), однако, различия недостоверны. При определении Cas-3-положительных клеток отмечается тенденция к снижению количества Cas-3 позитивных клеток в группе Ишемия+iAg 10384 (9586; 12685) в сравнении с группой Ишемия 13856 (11548; 18295) ( $p=0,068$ ) (**рис. 3**).

## Обсуждение

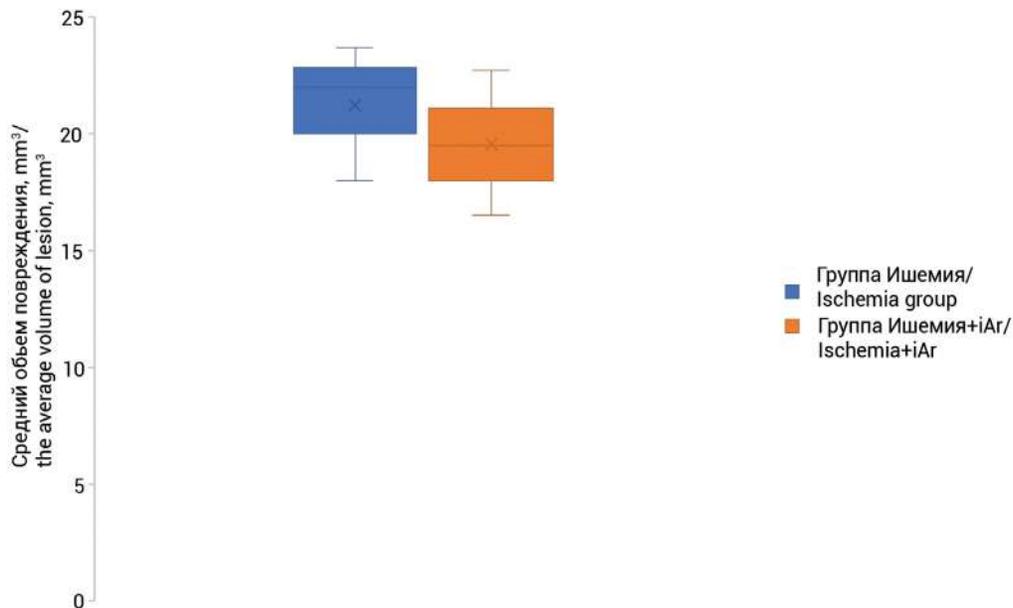
Данное исследование было выполнено для оценки режима экспозиции аргона и его нейропротективного действия на значимые параметры исхода после ишемического инсульта. Наше исследование показало, что трехкратная 2-х часовая ингаляция аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) через 24 часа после фотохимически индуцированного инсульта не снижает выраженность неврологического дефицита и не уменьшает объем повреждения головного мозга.

Согласно имеющимся данным, длительность экспозиции является важным аспектом при определении режима введения аргона в модели ишемии. В исследовании



**Рис. 1.** Тест ПКО. Результаты ПКО на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после моделирования ишемии. Данные представлены в виде медиан. Применялся тест ANOVA для сопоставления трех и более групп.

**Fig. 1.** Test "Placing the limb on support". Results on the 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days after ischemia modeling. Data are presented as medians. The ANOVA test was used to compare three or more groups.



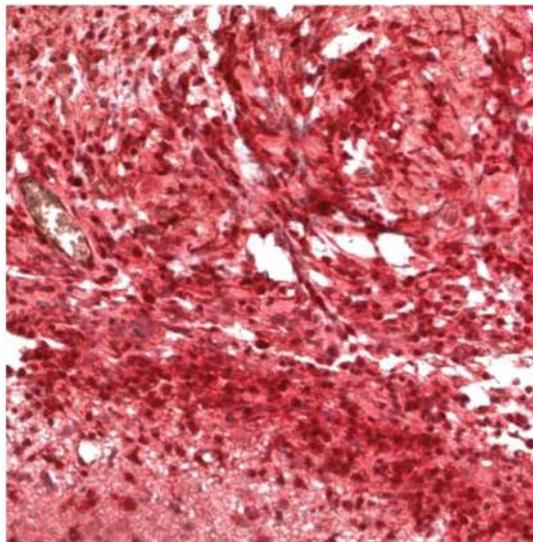
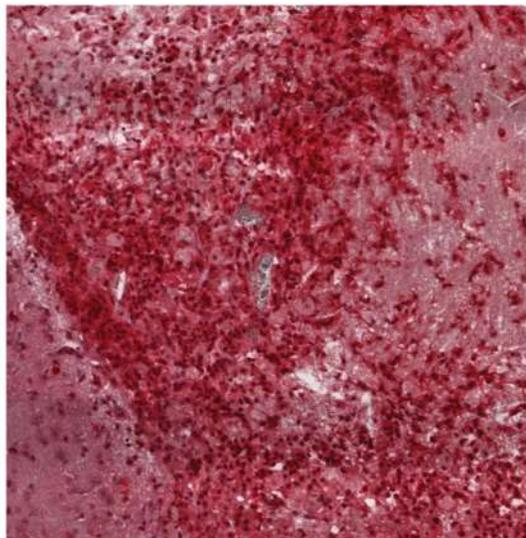
**Рис. 2.** Средний объем повреждения в группе Ишемия и Ишемия+iAr. Данные представлены в виде медиан и квартилей [25%; 75%].

**Fig. 2.** Mean lesion volume in the Ischemia group and Ischemia+iAr group. Data are presented as medians and quartiles [25%; 75%].

А. V. Fahlenkamp и соавт. показано, что в микроглиальных клетках аргон (50% концентрации) активирует ERK 1/2 уже через 15 мин, достигая максимального уровня активации через 30 мин, после чего эффект снижается к 60 мин. Это указывает на временные ограничения действия аргона, с пиковым эффектом в первые полчаса. В нейронах

и астроцитах активация также наблюдается, но менее выражена и незначима [7].

В другом исследовании, проведенном J. Liu и соавт., аргон вводили через 3 часа после начала инсульта и через 1 час после восстановления кровообращения. Результаты показали, что аргон помогает сохранить нейроны

*Иммуногистохимический анализ срезов головного мозга***Группа Ишемия/Ischemia group****Группа Ишемия+iAr/Ishemia+iAr**

**Рис. 3.** Гистологическая картина в группе Ишемия и Ишемия+iAr при комбинированной окраске на фактор фон Виллибранда (vWf) клетки окрашены красным цветом и каспаза-3 (Cas-3) окрашены в коричневый цвет.

**Fig. 3.** Histological picture in the Ischemia and Ischemia+iAr groups with combined staining for von Willebrand factor (vWf), the cells are stained red and caspase-3 (Cas-3) are stained brown.

в области ишемического повреждения и снижает активацию микроглии и макрофагов на протяжении 30 дней. Однако не было зафиксировано долгосрочного улучшения неврологических функций. В исследовании участвовало 20 крыс, которые были распределены на несколько групп: крысы с tMCAO, получавшие аргон, и контрольные группы, подвергавшиеся воздействию азота. В группе, получавшей аргон, количество нейронов в коре и подкорковой области было значительно выше, чем в контрольной группе. Также аргон заметно снизил активацию микроглии и макрофагов, что подтверждается уменьшением числа активированных клеток в группе с аргонем по сравнению с контрольной группой. Тем не менее, несмотря на нейропротекторные и противовоспалительные эффекты, долгосрочного улучшения неврологических функций, оцененных по 6-балльной шкале, не было обнаружено. Это может быть связано с естественным восстановлением после инсульта, что является характерным для многих поведенческих моделей [13].

P. Loetscher и соавт. в исследовании использовали органотипические культуры гиппокампа мышей, которые подвергали кислородно-глюкозной депривации (моделируя ишемию) или механическому повреждению (моделируя черепно-мозговую травму). После травматического воздействия клетки обрабатывались аргонем в различ-

ных концентрациях и с разными временными задержками (аргон вводился через 2 и 3 часа после моделирования). Уровень повреждения ткани оценивался через 72 часа с помощью флуоресцентного красителя пропидиума йодида, который проникает в поврежденные клетки. Результаты показали, что аргон обладает нейропротекторным эффектом при всех тестируемых концентрациях (25%, 50%, 74%), причем наибольшее снижение повреждения тканей наблюдалось при концентрации 74%, даже когда аргон применялся с задержкой до трех часов [14].

В исследовании [15] установлено, что позднее введение аргона через 2 часа после реперфузии также способствовало улучшению неврологического состояния и динамики восстановления. Однако это не привело к значительному снижению объема инфаркта. Это свидетельствует о частичной утрате нейропротекторного эффекта при отложенном введении аргона, поскольку реперфузионные и ишемические повреждения уже начали развиваться в пораженных областях.

В исследовании [16] был применен метод ингаляции аргона с концентрациями 25%, 50% и 75%. Аргон вводили крысам сразу после ишемии или с задержкой в 1,5 и 3 часа. Результаты показали, что эффективность ингаляции аргона зависела от его концентрации во вдыхаемой газовой смеси и времени введения. Например, при немед-

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

ленном введении аргона в концентрации 75% наблюдалось значительное снижение потери ганглиозных клеток сетчатки. Если ингаляция проводилась с задержкой в 1,5 часа, эффект оставался положительным, но менее выраженным. Однако при отсрочке на 3 часа защитные свойства наблюдались только при максимальной концентрации аргона (75%), тогда как более низкие концентрации не оказывали заметного влияния на апоптоз ганглиозных клеток сетчатки.

Те же исследователи [17] установили, что аргон в концентрации 75% практически полностью предотвращал апоптоз, индуцированный ротеином, и его эффект ослабевал при снижении дозы. При этом влияние аргона на защиту клеток от гибели не зависело от времени воздействия: экспозиция на протяжении 2 часов была такой же эффективной, как и 4-часовая. Таким образом, наибольший защитный эффект наблюдался при 75% концентрации аргона и минимальном времени воздействия в 2 часа. Это подтверждает зависимость защитного действия от дозы, где наибольшее влияние проявляется при высоких концентрациях аргона.

Учитывая литературные данные, можно предположить несколько факторов отрицательного результата исследования. Вероятно, эффективность протекторного действия аргона действительно ограничена по времени начала воздействия, однако, каков именно интервал, неизвестно. Достаточно большое количество работ указывает на максимальную эффективность действия аргона в первые три часа после инсульта [18, 19]. Кроме того, отрицательные результаты могут быть обусловлены моделью исследования, когда зона пенумбры не выражена и время воздействия ограничено [10].

При оценке неврологического статуса на 14-е сутки отчетливо видна тенденция улучшения показателей в группе Ишемия+iAr, однако, различия не достоверны. Это может говорить о проявлении нейропротекторных свойств даже при отсроченном введении, однако, это требует дополнительного подтверждения.

### Заключение

Трехкратная 2-х часовая ингаляция аргон-кислородной смеси (Ar 70%/O<sub>2</sub> 30%) через 24 часа после ишемического инсульта у крыс не влияет на выраженность неврологического дефицита животных и объем повреждения. Таким образом, данный режим ингаляции аргон-кислородной смеси является нецелесообразным для использования на модели фотохимически индуцированного инсульта у крыс.

### Литература

(п.п. 2; 4–9; 11–17 см. References)

1. Ключихина О.А., Шпрах В.В., Стаховская Л.В., Полунина О.С., Полунина Е.А. Показатели заболеваемости инсультом и смертности от него на территориях, вошедших в Федеральную про-

грамму реорганизации помощи пациентам с инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2021; 121(3-2): 22-8. <https://doi.org/10.17116/jnevro202112103222>

3. Солдатов П.Э., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н., Федотов А.П., Чугуев А.П. Выживаемость лабораторных животных в аргон-содержащих гипоксических средах. *Авиационная и экологическая медицина*. 1998; 32(4): 33–7.
10. Голубев А.М. Модели ишемического инсульта (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16(1): 59–72. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2020-1-59-72>
18. Силачев Д.Н., Боева Е.А., Якупова Э.И. и др. Положительный нейропротективный эффект ингаляции аргона после фотоиндуцированного ишемического инсульта у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023; 176(8): 167–74. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2023-176-8-167-174>
19. Боева Е.А., Силачев Д.Н., Якупова Э.И., Милованова М.А., Варнакова Л.А., Калабушев С.Н. и др. Изучение нейропротективно-го 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>

### References

1. Klochikhina O.A., Shprach V.V., Stakhovskaya L.V., Polunina O.S., Polunina E.A. Dynamics of stroke morbidity and mortality over an eight-year period in the territories included in the Federal program for the reorganization of care for stroke patients. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Imeni S.S. Korsakova. Spetsvypuski*. 2021; 121(3–2): 22–8. <https://doi.org/10.17116/jnevro202112103222> (in Russian)
2. Nam H.S., Kim B.M. Advance of thrombolysis and thrombectomy in acute ischemic stroke. *Journal of Clinical Medicine*. 2023; 12(2): 720. <https://doi.org/10.3390/jcm12020720>
3. Soldatov P.E., Dyachenko A.I., Pavlov B.N., Fedotov A.P., Chugaev A.P. Survival of laboratory animals in argon-containing hypoxic gaseous environments. *Aviatsionnaya i ekologicheskaya meditsina*. 1998; 32(4): 33–7. (in Russian)
4. Fahlenkamp A.V., Coburn M., de Prada A. Gereitzig N., Beyer C., Haase H., 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. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-4-11>
5. Zhao H., Mitchell S., Koumpa S., Yushi C.T.; Qingquan L., Hagerberg H., et al. Oxygenase-1 mediates neuroprotection conferred by argon in combination with hypothermia in neonatal hypoxia-ischemia brain injury. *Anesthesiology*. 2016; 125(1): 180–92. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000001128>
6. David H.N., Haelewyn B., Degoulet M. Colomb D.G., Risso J.J., Jacques H.A. *Ex vivo* and *in vivo* neuroprotection induced by argon when given after an excitotoxic or ischemic insult. *PLoS One*. 2012; 7(2): e30934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030934>
7. Fahlenkamp A.V., Rossaint R., Haase H. Al Kassam H., Ryang Y.M., Beyer C., et al. The noble gas argon modifies extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling in neurons and glial cells. *Eur J Pharmacol*. 2012; 674(2–3): 104–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.10.045>
8. Goebel U., Scheid S., Spassov S., Schallner N., Wollborn J., Buerkle H., et al. Argon reduces microglial activation and inflammatory cytokine expression in retinal ischemia/reperfusion injury. *Neural Regen Res*. 2021; 16(1): 192–8. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.290098>

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.02.38-45

9. Ulbrich F., Goebel U. The molecular pathway of argon-mediated neuroprotection. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(11): 1816. <https://doi.org/10.3390/ijms17111816>
10. Golubev A.M. Models of ischemic stroke (review). *Obshchaya reanimatologiya.* 2020; 16(1): 59–72. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2020-1-59-72> (in Russian)
11. 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): 1383–90. <https://doi.org/10.1161/01.str.20.10.1383>
12. Jolkkonen J., Puurunen K., Rantakömi S. Härkönen A., Haapalinna A., Sivenius J. Behavioral effects of the alpha(2)-adrenoceptor antagonist, atipamezole, after focal cerebral ischemia in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 400(2–3): 211–9. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00409-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00409-x)
13. Liu J., Veldeman M., Höllig A., Nolte K., Liebenstund L., Willuweit A., et al. Post-stroke treatment with argon preserved neurons and attenuated microglia/macrophage activation long-termly in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO). *Sci Rep.* 2022; 12(1): 691. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04666-x>
14. Loetscher P.D., Rossaint J., Rossaint R., Weis J., Fries M., Fahlenkamp A., et al. Argon: neuroprotection in *in vitro* models of cerebral ischemia and traumatic brain injury. *Crit Care.* 2009; 13(6): R206. <https://doi.org/10.1186/cc8214>
15. Ma S., Chu D., Li L., Creed J.A., Ryang Y.M., Sheng H., 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. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003809>
16. Ulbrich F., Schallner N., Coburn M., Loop T., Lagrèze W.A., Biermann J., et al. Argon inhalation attenuates retinal apoptosis after ischemia/reperfusion injury in a time- and dose-dependent manner in rats. *PLoS One.* 2014; 9(12): e115984. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115984>
17. Ulbrich F., Kaufmann K., Roesslein M., Wellner F., Auwärter V., Kempf J., et al. Argon mediates anti-apoptotic signaling and neuroprotection via inhibition of Toll-Like receptor 2 and 4. *PLoS One.* 2015; 10(12): e0143887. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143887>
18. Silachev D.N., Boeva E.A., Yakupova E.I. Milovanova M.A., Varnakova L.A., Kalabushev S.N., et al. Positive neuroprotective effect of argon inhalation after photochemically induced ischemic stroke model in rats. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2023; 176(2): 143–9. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-05984-6> (in Russian)
19. Boeva E.A., Silachev D.N., Yakupova E.I. Milovanova M.A., Varnakova L.A., Kalabushev S.N., et al. Experimental study of neuroprotective properties of inhaled argon-oxygen mixture in a photoinduced ischemic stroke model. *Obshchaya reanimatologiya.* 2023; 19(3): 46–53. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2023-3-46-53> (in Russian)

**Сведения об авторах:**

**Боева Екатерина Александровна**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: eboeva@fnkcr.ru;

**Сутормин Максим Викторович**, руководитель службы неврологии и реабилитации ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», e-mail: nevrokgb@yandex.ru;

**Антонова Виктория Витальевна**, мл. науч. сотр. «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: victoriyant.sci@gmail.com;

**Любомудров Максим Алексеевич**, мл. науч. сотр. «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: mlyubomudrov@fnkcr.ru;

**Черпаков Ростислав Александрович**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: zealot333@mail.ru;

**Лобанов Александр Владимирович**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБУ НИИОПП, e-mail: lobanov-av@yandex.ru;

**Кузовлев Артём Николаевич**, доктор мед. наук, зам. директора, руководитель «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: artem\_kuzovlev@fnkcr.ru;

**Гребенчиков Олег Александрович**, доктор мед. наук, зав. лаб. органопротекции при критических состояниях «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФНКЦ РР, e-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru