



## Оценка антигипоксических эффектов лечебных дыхательных смесей с высоким содержанием аргона на примере острой кровопотери лабораторных животных: доклиническое экспериментальное рандомизированное исследование

Н.В. Кочубейник<sup>1</sup>, А.О. Иванов<sup>2</sup>✉, В.А. Петров<sup>2</sup>, В.С. Грошили<sup>1</sup>, А.А. Танова<sup>1</sup>, В.Р. Гостев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пер. Нахичеванский, д. 29, г. Ростов-на-Дону, 344022, Россия

<sup>2</sup> Общество с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский институт геропротекторных технологий», ул. Большая Пороховская, д. 61 лит. Б, помещ. 30, г. Санкт-Петербург, 195248, Россия

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Основной гипотезой проведенного исследования явилось положение о том, что лечебную эффективность мероприятий по купированию неотложных гипоксических (ишемических) состояний можно существенно повысить путем использования для дыхания пациента искусственной газовой смеси с нормальным или повышенным содержанием кислорода и высоким содержанием аргона, обладающего, несмотря на свою химическую инертность, биологической активностью. **Цель исследования** — экспериментальная оценка антигипоксических эффектов аргона на примере острой массивной кровопотери у подопытных животных. **Методы.** Субъект исследования — 72 самца-альбиноса серых крыс массой тела на момент начала исследования 220–250 г. Эксперименты проведены на базах федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» и федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Перед началом эксперимента животные помещались на 2-недельный карантин в вивариях исполняющих организаций. Острую массивную кровопотерю у крыс формировали взятием крови (в среднем  $12 \pm 1\%$  от массы тела) шприцевым методом путем транскutánной пункции сердца. Крысы рандомизированно распределялись на 3 равные по численности группы (по 24 особи) в зависимости от газовой среды, в которую помещалось животное после искусственной кровопотери. Состав примененных газовых сред в группах сравнения: среда № 1 — кислород 21 % об.; аргон 30 % об.; азот — остальное; среда № 2 — кислород 21 % об.; аргон — остальное; среда № 3 (контроль) — воздух. На этапе постоперационного наблюдения (посткондиционирования) в течение 8 часов оценивали и фиксировали: показатели выживаемости/летальности; показатели восстановления (время выхода из наркоза, время восстановления активности); клинические симптомы возможной интоксикации газовой смесью в ходе ингаляционного воздействия. Далее в течение 4 суток проводились наблюдения за выжившими животными, где оценивались состояние их здоровья, поведенческая активность. После окончания периода наблюдения животных эвтаназировали. **Результаты.** После искусственной кровопотери все погибшие животные погибли в течение 1,5–8 часов после операции. В группе 1 (посткондиционирование в среде № 1) летальность лабораторных животных составила 4 особи из 24 (16%); в группе 2 (посткондиционирование в среде № 2) — 2 особи из 24 (8%). В контрольной группе летальность была существенно большей — 10 животных из 24 (42%). Среди выживших животных при наблюдении в течение 4 суток после окончания воздействия летальность и заболеваемость не наблюдались. Анализ исходов между экспериментальными группами и контролем выявил, что уровень значимости различий в показателе летальности между группой 1 и контролем (по двустороннему критерию Фишера) составлял  $p = 0,06$ ; между группой 2 и контролем —  $p = 0,017$ . При увеличении статистической «мощности» экспериментальной группы (путем объединения 1-й и 2-й выборок) уровень значимости различий исходов в этой группе по сравнению с контролем составил  $p < 0,001$ . **Заключение.** Проведенные исследования подтвердили гипотезу о выраженном антигипоксическом эффекте аргона, который существенно повысил выживаемость подопытных животных после искусственной массивной кровопотери.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** острая кровопотеря, искусственные лечебные газовые смеси, аргон, антигипоксический эффект

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Кочубейник Н.В., Иванов А.О., Петров В.А., Грошили В.С., Танова А.А., Гостев В.Р. Оценка антигипоксических эффектов лечебных дыхательных смесей с высоким содержанием аргона на примере острой кровопотери лабораторных животных: доклиническое экспериментальное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(2):69–79. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-2-69-79>

**ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ:** авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ:** данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у контактного автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала — сертифицированным специалистом по биостатистике.

**СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ:** Перед началом исследования его протокол и операционные процедуры были рассмотрены и утверждены Локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

(мкр. Орлова роща, д. 1, г. Гатчина, Россия), протокол № 7/18 от 04.09.2018 г., Комиссией по биоэтике федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Профессора Попова, д. 15/17, г. Санкт-Петербург, Россия), протокол № 35 от 11 марта 2021 г. Основными нормативными документами, определяющими порядок и правила содержания лабораторных животных, проведения экспериментов, являлись: СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утв. 29 августа 2014 года № 51; ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур»; Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. — Rus-LASA; European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS № 123; Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. — Washington, D.C. 1996; ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

**ВКЛАД АВТОРОВ:** Н.В. Кочубейник, А.О. Иванов, В.А. Петров, В.С. Грошинин, А.А. Танова, В.Р. Гостев — разработка концепции и дизайна исследования; А.О. Иванов, В.А. Петров — сбор данных; Н.В. Кочубейник, В.С. Грошинин, А.А. Танова, В.Р. Гостев — анализ и интерпретация результатов; Н.В. Кочубейник, В.С. Грошинин, А.А. Танова, В.Р. Гостев — обзор литературы, проведение статистического анализа; Н.В. Кочубейник, В.С. Грошинин, А.А. Танова, В.Р. Гостев — составление черновика рукописи и формирование его окончательного варианта; А.О. Иванов, В.А. Петров — критический пересмотр черновика рукописи с внесением ценного замечания интеллектуального содержания. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающие надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

✉ **КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР:** Иванов Андрей Олегович, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель общества с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский институт геропротекторных технологий». Адрес: ул. Большая Пороховская, д. 61, лит. Б, помещ. 30, г. Санкт-Петербург, 195248, Россия. E-mail: ivanoff65@mail.ru

Получена: 05.10.2023 / Получена после доработки: 09.02.2024 / Принята к публикации: 12.03.2024

## Evaluation of antihypoxic effects of therapeutic breathing mixtures with high argon content on the example of acute blood loss in laboratory animals: a preclinical randomized experimental study

Nikolay V. Kochubeinik<sup>1</sup>, Andrey O. Ivanov<sup>2✉</sup>, Vasily A. Petrov<sup>2</sup>, Vitaly S. Groshilin<sup>1</sup>, Anastasia A. Tanova<sup>1</sup>, Vyacheslav R. Gostev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Rostov State Medical University, Nakhichevansky pereulok, 29, Rostov-on-Don, 344022, Russia

<sup>2</sup> Research Institute of Geroprotective Technologies, Bolshaya Porokhovskaya str., 61/B, room. 30, Saint Petersburg, 195248, Russia

### ABSTRACT

**Background.** According to the hypothesis of the study, the therapeutic efficacy of measures to treat hypoxic (ischemic) emergencies can be significantly increased by using an artificial gas mixture with normal or increased oxygen content and a high content of argon, being bioactive despite its chemical inertness. **Objective.** To experimentally evaluate the antihypoxic effects of argon on the example of acute massive blood loss in experimental animals. **Methods.** The study was carried out on 72 albino male gray rats with a baseline body weight of 220–250 g. The experiments were performed at the premises of the Konstantinov St. Petersburg Nuclear Physics Institute of the Kurchatov Institute and the Smorodintsev Research Institute of Influenza (Russia). Prior to the experiment, the animals were quarantined for 2 weeks in the vivariums of the performing organizations. Acute massive blood loss in rats was formed by taking blood ( $12 \pm 1\%$  of body weight on average) using syringe method by transcutaneous cardiac puncture. Rats were randomized into 3 groups (24 individuals each) depending on the gaseous medium where the animal was placed after artificial blood loss. Composition of the applied gaseous medium in the comparison groups: medium No. 1 — oxygen 21% vol.; argon — 30% vol.; nitrogen — the rest; medium No. 2 — oxygen 21% vol.; argon — the rest; medium No. 3 (control) — air. The postoperative follow-up (post-conditioning) for 8 hours involved assessing and recording the following indicators: survival/lethality rates; recovery rates (anesthesia recovery, somatic mobilization); clinical symptoms of possible intoxication with the gas mixture during inhalation exposure. The surviving animals were then monitored for 4 days to evaluate their health and behavioral performance. Upon completing the observation period, the animals were euthanized. **Results.** After artificially-induced blood loss, all the non-survivors died within 1.5–8 hours after the operation. In group 1 (post-conditioning in medium No. 1), the lethality of laboratory animals amounted to 4 individuals out of 24 (16%); in group 2 (post-conditioning in medium No. 2) — 2 individuals out of 24 (8%). In the control group, the lethality rate was significantly higher — 10 animals out of 24 (42%). The surviving animals demonstrated no lethality or morbidity within 4 days after the exposure. Analysis of outcomes between experimental groups and controls revealed that the significance of differences in the lethality index between group 1 and control (by Fisher's two-sided criterion) comprised  $p = 0.06$ ; between group 2 and control —  $p = 0.017$ . When the statistical "power" of the experimental group was increased (by combining samples 1 and 2), the significance of differences in outcomes in this group compared to the control accounted for  $p < 0.001$ . **Conclusion.** The conducted studies confirmed the hypothesis about the pronounced antihypoxic effect of argon, which significantly increased the survival rate of experimental animals after massive artificially-induced blood loss.

**KEYWORDS:** acute blood loss, artificial therapeutic gas mixtures, argon, antihypoxic effect

**FOR CITATION:** Kochubeinik N.V., Ivanov A.O., Petrov V.A., Groshilin V.S., Tanova A.A., Gostev V.R. Evaluation of antihypoxic effects of therapeutic breathing mixtures with high argon content on the example of acute blood loss in laboratory animals: a preclinical randomized experimental study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2024;31(2):69–79 (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-2-69-79>

**FUNDING:** The authors declare that no funding was received for this study.

**CONFLICT OF INTEREST:** The authors declare no conflict of interest.

**DATA AVAILABILITY STATEMENT:** Data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request. The data and statistical methods presented in the paper have been statistically reviewed by the journal editor, a certified biostatistician.

**COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS:** Prior to the study, its protocol and operating procedures were reviewed and approved by the Local Committee for Ethics of the Konstantinov Saint Petersburg Institute of Nuclear Physics of the Kurchatov Institute (Orlova Roshcha mkr., 1, Gatchina, Russia), protocol No. 7/18 dated September 4, 2018, by the Bioethics Commission of the Smorodintsev Research Institute of Influenza (Professor Popov str., 15/17, St. Petersburg, Russia), Minutes No. 35 of March 11, 2021. The main documents regulating the procedure and rules for keeping laboratory animals and conducting experiments included: SP 2.2.1.3218-14 “Sanitary and Epidemiological Requirements for the Design, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums)”, approved on August 29, 2014 No. 51; GOST 33215-2014 “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Environment, Housing and Management”; Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22.09.2010 “On the Protection of Animals Used for Scientific Purposes” — Rus-LASA; European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123; Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press, 2002. — Washington, D.C. 1996; GOST 33044–2014 “Principles of Good Laboratory Practice”, approved by Order No. 1700-ST (November 20, 2014) of the Federal Agency on Technical Regulation and Metrology.

**AUTHOR CONTRIBUTIONS:** N.V. Kochubeinik, A.O. Ivanov, V.A. Petrov, V.S. Groshilin, A.A. Tanova, V.R. Gostev — concept statement and contribution to the scientific layout; A.O. Ivanov, V.A. Petrov — data collection; N.V. Kochubeinik, V.S. Groshilin, A.A. Tanova, V.R. Gostev — analysis and interpretation of the results; N.V. Kochubeinik, V.S. Groshilin, A.A. Tanova, V.R. Gostev — literature review, statistical analysis; N.V. Kochubeinik, V.S. Groshilin, A.A. Tanova, V.R. Gostev — drafting the manuscript and preparing its final version; A.O. Ivanov, V.A. Petrov — critical review of the manuscript with introduction of valuable intellectual content. All authors approved the final version of the paper before publication and assume responsibility for all aspects of the work, which implies proper study and resolution of issues related to the accuracy and integrity of any part of the work.

✉ **CORRESPONDING AUTHOR:** Andrey O. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Director, Research Institute of Geroprotective Technologies. Address: Bolshaya Porokhovskaya str., 61/B, room. 30, Saint Petersburg, 195248, Russia. E-mail: ivanoff65@mail.ru

**Received:** 05.10.2023 / **Received after revision:** 09.02.2024 / **Accepted:** 12.03.2024

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проведенного исследования продиктована необходимостью постоянного совершенствования методов лечения пациентов с острыми и хроническими гипоксическими (ишемическими) состояниями, связанными с повреждениями основных кислородтранспортных систем организма (кровообращения, дыхания, крови) и являющимися ведущей причиной смертности населения в мире [1–3]. В ряду вспомогательных средств неотложной терапии больных с острой недостаточностью газотранспортных систем (инфаркт миокарда, церебральный инсульт, кровопотеря и др.) особое место принадлежит применению лечебных искусственных газовых смесей (ЛИГС) с повышенным содержанием кислорода — оксигенотерапии<sup>1</sup> [4, 5]. Оксигенотерапия позволяет улучшить энергообеспечение жизненно важных тканей и органов и прежде всего нейронов высших отделов коры головного мозга, наиболее чувствительных к кислородному голоданию. Однако применение при оксигенотерапии 100%-го кислорода приводит к многим нежелательным явлениям и реакциям в организме [6, 7], в связи с чем в неотложной терапии критических гипоксических состояний, как правило, используются ИГС с концентрацией кислорода 40–60%, остальное — азот.

Основной гипотезой данного исследования явилось положение о том, что лечебную эффективность и безопасность применения ЛИГС в купировании неотложных гипоксических состояний можно существенно повысить путем частичного или полного замещения в дыхательной смеси азота аргоном, обладающим, несмотря на свою химическую инертность, биологической активностью. Теоретическим базисом для данной гипотезы послужили работы ученых, выявивших специфические антигипоксические эффекты аргона. Так, Б. Н. Павловым и соавт.<sup>2</sup> показано, что при нахождении лабораторных крыс в замкнутом неветилируемом объеме замещение азота аргоном повышает длительность выживания животных примерно на 30% по сравнению с пребыванием в исходно атмосферном воздухе.

Для исследования антигипоксических (органопротекторных) свойств аргона *in vivo* были проведены также эксперименты с искусственной церебральной ишемией (перевязка церебральных сосудов) или с ишемией миокарда (перевязка коронарной артерии) с последующим посткондиционированием в гипероксических безаргоновых и аргоновых ЛИГС (АрЛИГС). Так, A. Brücken et al. (2017) [8], M. Koziakova et al. (2019) [9] продемонстрировали статистически значимое уменьшение объема инфаркта

<sup>1</sup> Павлов Б. Н., Смолин В. В., Баранов В. М., Соколов Г. М., Куссмауль А. Р., Павлов Н. Б., Шереметова Н. Н., Тугушева М. П., Жданов В. Н., Логунов А. Т., Потапов В. Н. *Основы барофизиологии, водолазной медицины, баротерапии и лечения инертными газами*. Под ред. акад. А. И. Григорьева. М.: Грант Полиграф, 2008. 496 с.

<sup>2</sup> Там же.

миокарда у крыс и снижение его неблагоприятных последствий при применении в реанимационном периоде АрЛИГС. В другом эксперименте, проведенном также на крысах, D.N. Silachev et al. (2023) [10] определили достоверное снижение площади искусственного кортикального инсульта в результате посткондиционирования в АрИГС по сравнению со стандартной оксигенотерапией.

В стендовых исследованиях с участием испытуемых-добровольцев доказаны антигипоксические эффекты аргона при длительном (60-суточном) пребывании в условиях дефицита кислорода в окружающем воздухе (концентрация кислорода 14%, аргона 35%, азот — остальное) [11, 12]. Кроме этого, результаты проведенных исследований подтвердили токсикологическую безопасность аргона даже при длительной и непрерывной экспозиции человека в АрЛИГС.

Несмотря на приведенные выше результаты экспериментальных и клинико-физиологических исследований, до настоящего времени литературные данные об антигипоксических и органопротекторных эффектах аргона, его безопасности для организма разрозненны, не систематизированы и зачастую противоречивы, как это, например, показано в систематических обзорах F. Nespoli et al. (2019) [13], M. Liang et al. (2022) [14].

**Цель исследования** — экспериментальная оценка антигипоксических эффектов аргона на примере острой массивной кровопотери у подопытных животных.

## МЕТОДЫ

### Экспериментальные животные

Эксперименты проведены на самцах альбиносах серых крыс (*Rattus norvegicus*, John Berkenhout, 1769), массой тела на момент начала исследования 220–250 г, разведения питомника лабораторных животных «Рапполово» филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (филиал НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ — ПЛЖ «Рапполово», д. Рапполово, Ленинградская обл.). Питомник предоставил ветеринарные сертификаты на все партии поставляемых животных.

### Размещение и содержание

Перед началом эксперимента животные помещались на обязательный 2-недельный карантин в вивариях исполняющих организаций. Крысы находились по 4–6 особей в стандартных клетках для содержания лабораторных грызунов (тип IV). Ограничения в питании и питьевом режиме не вводились. На всем протяжении исследования использовали полноценный, специально разработанный для питания лабораторных грызунов экструдированный и гранулированный корм (ООО «Лабораторкорм», Россия). В качестве подстилочного материала использовали опилки из лиственных пород деревьев, подвергшихся предварительной стерилизации в сухожаровом шкафу при 120 °C в течение 20 мин.

Световой режим в помещении, где содержались животные: свет («день»): 08.00–20.00; темнота («ночь») 20.00–08.00. Температурный режим в помещении 20–22 °C. Относительная влажность воздуха в помещении 50–70%. В помещении была установлена система приточно-вытяжной вентиляции, предусматривающая режим проветривания 15 объемов комнаты в час.

### Дизайн исследования

Проведено рандомизированное доклиническое экспериментальное исследование. Работа проведена в рамках обязательных доклинических исследований, предусмотренных для внедрения в медицинскую практику новых лекарственных средств, в частности, ЛИГС с высоким содержанием аргона. Исследования выполнены в соответствии с нормативными требованиями российских<sup>3,4</sup> и международных<sup>5</sup> стандартов по Правилам надлежащей лабораторной практики. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке.

### Объем выборки

Из 140 находившихся под наблюдением крыс были отобраны 72 особи, соответствующие критериям включения. Группы формировались по принципу состава газовой среды, в которую помещали животное после операции: группа 1 (экспериментальная) — постоперационное пребывание (посткондиционирование) в АрЛИГС № 1 (состав: кислород 21% об.; аргон 30% об.; азот — остальное); группа 2 (экспериментальная) — посткондиционирование в АрЛИГС № 2 (состав: кислород 21% об.; аргон — остальное); группа 3 (контрольная) — пребывание на воздухе (состав: кислород 21% об., азот — остальное).

### Критерии соответствия

#### Критерии включения

Нормальная поведенческая активность, отсутствие признаков заболеваний и повреждений, бледности кожи, помутнения роговицы.

#### Критерии не включения

Самки, самцы с массой тела менее 220 и более 250 г, внешние признаки заболеваний, признаки пониженной или чрезмерной поведенческой активности (пониженный груминг, учащенное мочеиспускание или дефекация, беспокойство или заторможенность, пониженное или избыточное потребление пищи и воды и др.).

#### Критерии исключения

Гибель животного во время операции или в течение 5 мин после ее проведения, наличие врожденной патологии внутренних органов, обнаруженной после вскрытия выживших или погибших животных.

### Рандомизация

Отобранных для участия в эксперименте животных рандомизированно распределяли на 3 равные по численности (по 24 особи) группы. Рандомизация проводилась методом «конвертов». Один из сотрудников вивария выбирал

<sup>3</sup> Приказ Министерства здравоохранения РФ от 01 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

<sup>4</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

<sup>5</sup> Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development. WHO; 2019. URL: <https://www.who.int/tcdr/publications/documents/glp-handbook.pdf?>

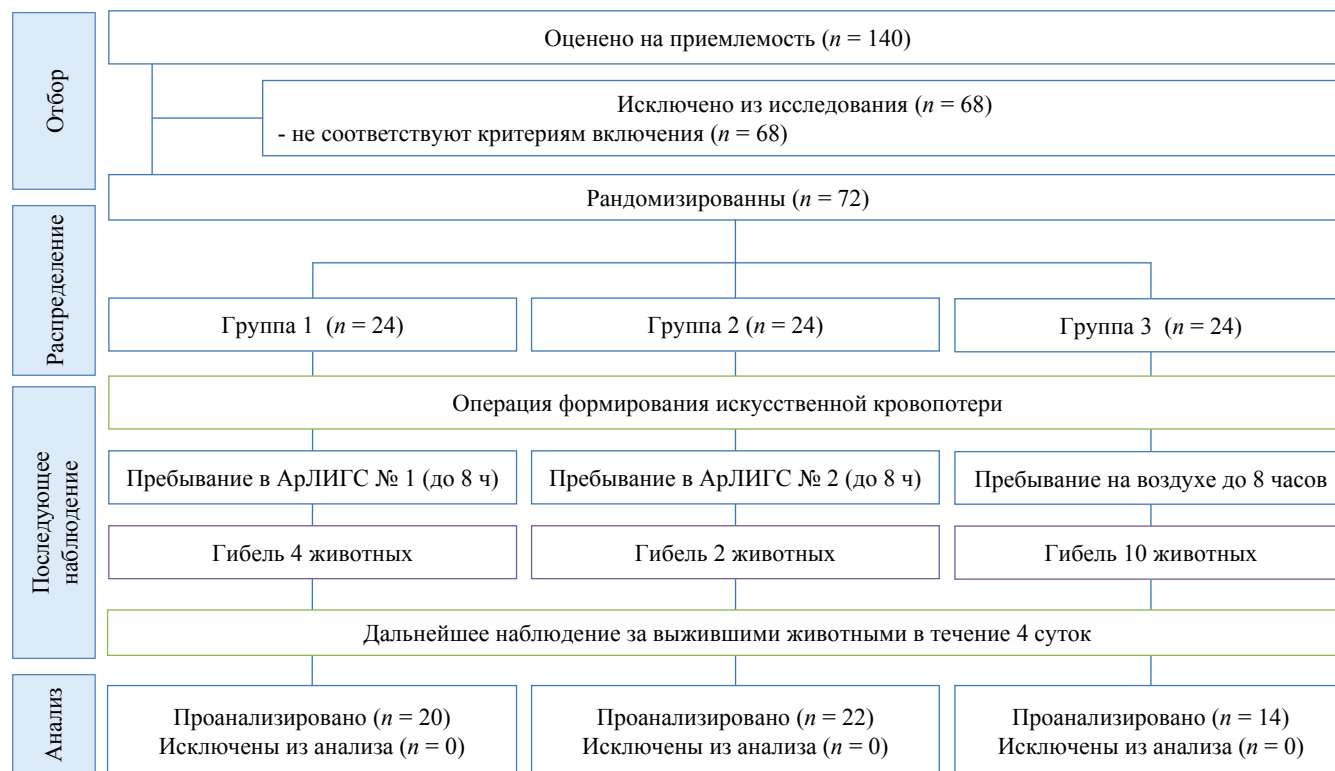


Рис. Блок-схема дизайна исследования

Примечание: блок-схема составлена авторами (согласно рекомендациям ARRIVE). Сокращение: АрЛИГС — аргоновые лечебные искусственные газовые смеси.

Fig. Schematic diagram of the research design

Note: performed by the authors (according to ARRIVE recommendations). Abbreviation: АрЛИГС — argon therapeutic artificial gas mixtures.

животное, другой доставал из непрозрачного конверта карту с номером группы (1, 2, 3), в которую распределялась данная особь. После проведения рандомизации было проверено и подтверждено статистически (см. ниже), что включенные в исследование крысы всех групп были сопоставимыми по показателям поведенческой активности, визуальному отсутствию патологий. Среднегрупповые показатели массы тела в сопоставляемых группах значимо не различались. Анализ сопоставимости по возрасту между группами не проводился, так как по данным ветеринарного свидетельства возраст всех животных составлял 7 мес., также не проводилась сопоставимость по породе и полу, поскольку данные критерии были определены как обязательные при поставке животных из питомника.

### Обеспечение анонимности данных

Экспериментальные исследования были выполнены в независимых организациях (исполнители): федеральном государственном бюджетном учреждении «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский Институт» — ПИЯФ); федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Сморо-

динцева» Минздрава России) — в рамках договоров между указанными организациями и обществом с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский институт геропротекторных технологий» (ООО «НИИ Геропро»).

Подготовка, организация и проведение экспериментов контролировались ответственным сотрудником службы менеджмента качества исполнителей.

Информацией о распределении животных на группы располагал руководитель исследования А. О. Иванов. Оценка результатов и анализ полученных данных проводились коллективом авторов без введения дополнительных лиц.

### Итоговые показатели (исходы исследования)

В качестве итоговых показателей оценивали: выживаемость животных, скорость восстановления жизненных функций после операции, поведенческую активность, симптомы интоксикации.

### Экспериментальные процедуры

Операции по формированию острой массивной кровопотери проводили в начале светового периода суток. Крыс вводили в общий наркоз (инъекционный зоветиловый наркоз, в/м, в дозировке 12 мг/кг массы тела) и фиксировали марлевыми вязками за конечности и резцы верхней челюсти на операционном столике. Область грудной клетки дезинфицировали (70 %-ный раствор этилового спирта).



Взятие крови проводили в объеме  $28 \pm 4$  мл/кг массы тела подопытного животного шприцевым методом путем транскutánной пункции сердца.

Непосредственно после операции животное помещалось в клетку, находящуюся в боксе, где в течение всей экспозиции поддерживали газовые среды заданных составов.

В исследовании применялись нормоксические газовые смеси, различающиеся только по содержанию аргона и азота. Для создания АрЛИГС был сконструирован герметичный бокс. Кроме основной камеры бокс оснащен тамбур-шлюзом, устройством удаления  $\text{CO}_2$ , клапанами сброса избыточного давления газовой среды и вводами для датчиков контроля параметров формируемых газовых сред. Общий объем бокса 306 л, «рабочий» объем основной камеры 272 л, объем тамбур-шлюза 34 л. Для создания, поддержания и регулирования заданных параметров газовой среды в герметичном боксе был разработан комплекс специального оборудования. Контроль параметров газовой среды ( $\text{O}_2$ , Ar,  $\text{CO}_2$ ) и микроклимата (температура, влажность, давление, скорость движения воздуха) в «рабочем» помещении бокса при пребывании в нем животных осуществлялся непрерывно с использованием поверенных приборов.

На этапе постоперационного наблюдения (посткондиционирования) в течение 8 часов оценивали и фиксировали следующие показатели: показатели выживаемости/летальности ( $n$ , %); показатели восстановления: время выхода из наркоза, время восстановления активности (мин, с); клинические симптомы возможной интоксикации АрЛИГС в ходе ингаляционного воздействия (качественное описание).

Возможные симптомы интоксикации определяли по следующим критериям и в случае наличия приводили в описательном виде с указанием числа животных ( $n$ , %), у которых они имели место: положение тела в пространстве — на четырех лапах, на животе и боковое положение; наличие атаксии (нарушений координации); тактильно-болевая сенсibilизация — в качестве болевого раздражителя применяли сжатие задней лапы пинцетом (по мере угнетения деятельности ЦНС снижается болевая чувствительность, приводя к нелокализованному ответу на болевое воздействие сокращением брюшной стенки или полному отсутствию реакции); наличие и степень агрессивности; нарушение дыхания — нормальное дыхание крыс является ритмичным, 60–150 дыхательных движений в минуту; при интоксикации возможны: брадипноэ (менее 60 дых./мин), тахипноэ (более 150 дых./мин), патологическое дыхание, длительные промежутки апноэ; наличие сужения глазных щелей; наличие пилоэрекции; наличие реакции «отряхивания»; наличие тремора (судорожной готовности); наличие изменений акта дефекации.

#### Уход за животными и мониторинг

Последующее наблюдение за животными (при обычных условиях их пребывания) осуществляли в течение 4 сут. с целью выявления клинически значимых случаев (гибель животного, болезнь, неадекватное поведение и т. д.). Животные содержались со свободным доступом к пище

и воде. По окончании исследований животных из эксперимента выводили под общей анестезией с применением препаратов тилетамина гидрохлорид в дозировке 60 мг/кг и ксилазина гидрохлорид — 6 мг/кг, внутримышечно. В качестве другого варианта выведения животных из эксперимента использовалась ингаляция паров эфира в герметичном боксе.

#### Статистические процедуры

##### Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет выборки не производился.

##### Статистические методы

Статистическая обработка данных проводилась с использованием сертифицированных компьютерных программ «Statistica for Windows» v.12.0, Excel for Windows (Microsoft, США). Применялись стандартные методы математико-статистической обработки данных. Проверка выборок на нормальность распределения осуществлялась с использованием критерия Шапиро — Уилкса. При нормальном распределении результаты представлялись в виде  $M$  ( $\sigma$ ), где  $M$  — среднее арифметическое,  $\sigma$  — стандартное отклонение. При распределении, не соответствующем нормальному, данные приводились в виде  $Me$  ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ), где  $Me$  — медиана,  $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$  — нижний и верхний квартили. Значимость межгрупповых различий количественных данных оценивали с использованием критерия Манна — Уитни; номинальных (качественных) данных — с использованием двустороннего критерия Фишера. Различия рассматривались как статистически значимые при уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Количественная характеристика острой массивной кровопотери прооперированных животных экспериментальных и контрольной групп приведена в таблице 1.

Как видно из таблицы, рандомизированно сформированные группы животных были сопоставимы по исходной массе тела, что позволило при осуществлении массивной кровопотери обеспечить примерно идентичный объем взятой крови, составивший  $12 \pm 1\%$  от массы тела. Статистически значимых межгрупповых различий по массе тела и объему взятой крови не выявлено.

Исходная двигательная активность животных всех групп характеризовалась перемещением по клетке, вертикальной активностью (в среднем 4 стойки без опоры, 6 стоек с опорой, время наблюдения 3 мин), в течение 3 мин в среднем 15–25 с каждое животное тратило на самоочищение (груминг). Оценка значимости различий по ключевым показателям двигательной активности показала сопоставимость всех групп по этим параметрам ( $p > 0,05$ ).

Животные с периодичностью не менее 1 раз в 15 мин осуществляли принятие пищи или акт питья. Все перечисленные элементы поведения являются характерными для данного вида животных и расценивались нами как свидетельство здоровья и нормальности их состояния.

Непосредственно после острой массивной кровопотери животные всех групп не проявляли двигательной активности. У всех крыс отмечались бледность роговицы глаз (изменение цвета от красного до бледно-розового), учащение

Таблица 1. Количественная характеристика искусственной острой кровопотери у лабораторных крыс групп сравнения, Me (Q25; Q75)

Table 1. Quantitative characteristics of artificial acute blood loss in laboratory rats of comparison groups, Me (Q25; Q75)

| Показатель, ед.изм.        | Группа (число животных) |                   |                   |
|----------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|
|                            | Группа 1 (n = 24)       | Группа 2 (n = 24) | Контроль (n = 24) |
| Исходная масса тела, г     | 228 (204; 242)          | 253 (213; 268)    | 221 (206; 233)    |
| Масса после кровопотери, г | 222 (199; 236)          | 246 (203; 260)    | 215 (201; 227)    |
| Объем кровопотери, мл/кг   | 29 (24; 32)             | 28 (25; 31)       | 26 (24; 29)       |

Примечание: таблица выполнена авторами.

Note: table compiled by the authors.

Таблица 2. Показатели выживаемости и летальности крыс на фоне массивной кровопотери в группах сравнения

Table 2. Survival and lethality rates of rats against the background of massive blood loss in comparison groups

| Группа               | Показатели, ед. изм.        |                              |                              |
|----------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                      | Общее число животных, n (%) | Число погибших особей, n (%) | Число выживших особей, n (%) |
| Группа 1 (эксперим.) | 24 (100 %)                  | 4 (16 %)                     | 20 (84 %)                    |
| Группа 2 (эксперим.) | 24 (100 %)                  | 2 (8 %)                      | 22 (92 %)                    |
| Группа 3 (контроль)  | 24 (100 %)                  | 10 (42 %)                    | 14 (58 %)                    |

Примечание: таблица выполнена авторами.

Note: table compiled by the authors.

частоты дыхания (ЧД), анурия. По окончании 8-часового периода наблюдений у выживших после кровопотери животных всех групп (56 особей) отмечалось снижение общей двигательной активности: вертикальная активность отсутствовала; горизонтальная активность, груминг, принятие пищи и воды были снижены. Животные не проявляли исследовательского поведения, была характерна сонливость, неуверенная прерывистая походка, бледность роговицы глаз. При этом ЧД постепенно возвращалась к нормальным значениям.

На момент окончания периода наблюдений (8 часов после кровопотери) отличий в поведении и состоянии выживших животных в исследуемых группах отмечено не было. Клинические симптомы гиповолемического шока были идентичными во всех исследуемых группах. На момент выведения животных из эксперимента (4-е сутки после операции) отклонений в двигательной активности от животных, не участвовавших в эксперименте, не отмечалось.

Клинические симптомы интоксикации при применении АрЛИГС обоих составов отсутствовали, показатели восстановления и активности у выживших лабораторных животных на фоне кровопотери в контрольной и экспериментальных группах были идентичными.

В качестве интегрального критерия, позволяющего оценить протекторное влияние АрЛИГС, создаваемых в эксперименте, рассматривался уровень летальности крыс в обследуемых группах на фоне острой массивной кровопотери (табл. 2).

Все умершие животные (всего 16 особей) погибли в период с 1,5 до 8 часов после операции. Как следует из представленных данных, в экспериментальных группах летальность лабораторных животных составила 4 особи (16%) в первой группе и 2 особи (8%) во второй группе. В контрольной группе летальность была существенно большей — 10 животных из 24 (42%). Среди выживших

животных при наблюдении не менее 4 суток после окончания воздействия летальность и заболеваемость не наблюдались.

Статистический анализ полученных данных (частот исходов), проведенный с использованием точного двустороннего критерия Фишера, показал, что между экспериментальными группами значимые различия отсутствовали. Тем не менее дозозависимый антигипоксический эффект аргона в целом прослеживался. Анализ исходов между экспериментальными группами и контролем выявил следующие факты. Уровень значимости различий между группой 1 и контролем составлял  $p = 0,06$ , то есть имевшие место различия можно считать близкими к достоверным. Между группой 2 и контролем уровень значимости различий составил  $p = 0,017$ , отражая статистически значимо большую частоту благоприятных исходов.

При увеличении статистической «мощности» экспериментальной группы (путем объединения 1-й и 2-й выборок) уровень значимости различий исходов в этой группе по сравнению с контролем составил  $p < 0,001$ , подтверждая гипотезу о выраженном антигипоксическом и органопротекторном эффекте аргона, который существенно повлиял на выживаемость подопытных животных после искусственной массивной кровопотери.

В таблице 3 представлены данные о скорости восстановительных процессов у животных, выживших в эксперименте.

Как следует из представленных данных, максимальное время восстановления жизненных функций прооперированных животных наблюдалось в экспериментальной группе 2 ( $88 \pm 11$  мин), что в среднем на 39% больше, чем в контрольной группе ( $49 \pm 7$  мин); в группе 1 величина данного показателя ( $71 \pm 5$  мин) превышала его значения в контроле в среднем на 31%. Аналогичные соотношения зарегистрированы при оценке времени восстановления двигательной активности: в экспериментальной группе 1

Таблица 3. Показатели восстановления жизненных функций выживших особей сравниваемых групп после искусственной кровопотери  $M(\sigma)$

Table 3. Restoration of vital functions in surviving individuals in the compared groups after artificial blood loss  $M(y)$

| Группа (число особей)                   | Показатель (мин)                     |                                              |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------|
|                                         | Время выхода из прекомы              | Время восстановления двигательной активности |
| Экспериментальная группа 1 ( $n = 20$ ) | 71 (5)<br>$p_2 = 0,047$              | 95 (12)                                      |
| Экспериментальная группа 2 ( $n = 22$ ) | 88 (11)                              | 101 (15)                                     |
| Контрольная группа ( $n = 14$ )         | 49 (7)<br>$p_1 = 0,008, p_2 = 0,001$ | 65 (8)<br>$p_1 = 0,002, p_2 < 0,001$         |

Примечание: таблица выполнена авторами; уровень значимости различий:  $p_1$  — по сравнению с группой 1,  $p_2$  — по сравнению с группой 2.

Note: table compiled by the authors; significance of differences:  $p_1$  — compared to group 1,  $p_2$  — compared to group 2.

Таблица 4. Динамика частоты дыхания (цикл/мин) у выживших животных групп сравнения после искусственной острой кровопотери крыс,  $Me(Q25; Q75)$

Table 4. Dynamics of respiratory rate (cycle/min) in surviving animals of comparison groups after artificial acute blood loss in rats,  $Me(Q25; Q75)$

| Время после операции | Группа (число животных) |                       |                       |
|----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                      | Группа 1 ( $n = 20$ )   | Группа 2 ( $n = 22$ ) | Контроль ( $n = 14$ ) |
| 2 ч                  | 122 (105; 138)          | 125 (108; 140)        | 124 (106; 133)        |
| 4 ч                  | 115 (99; 125)           | 119 (103; 131)        | 110 (91; 127)         |
| 6 ч                  | 105 (92; 112)           | 108 (95; 122)         | 107 (94; 120)         |
| 8 ч                  | 104 (90; 111)           | 103 (91; 109)         | 104 (94; 110)         |

Примечание: таблица выполнена авторами.

Note: table compiled by the authors.

время восстановления ( $95 \pm 12$  мин) в среднем на 32 % превышало таковое в контроле ( $65 \pm 8$  мин), в группе 2 ( $101 \pm 15$  мин) — в среднем на 36 %.

Удлинение периода восстановления в экспериментальных группах относительно контроля объясняется, на наш взгляд, большей летальностью относительно слабых животных в контрольной выборке. Часть таких животных в экспериментальных группах выжили, но при этом восстановление их жизненных функций происходило медленнее, чем у животных с исходно более высоким уровнем устойчивости к экстремальным воздействиям.

Тем не менее необходимо было исключить возможное токсическое действие искусственных газовых сред с высоким содержанием аргона, поскольку, судя по представленным выше данным, можно было заподозрить отрицательный дозозависимый эффект у примененных для посткондиционирования лечебных искусственных дыхательных смесей.

Как указывалось, выше, возможные симптомы интоксикации определяли по специальным критериям, характеризующим положение тела, координацию движений, болевой чувствительности, повышенной агрессивности, пилоэрекции и других.

Анализ полученных данных показал, что уже примерно через 2,5 часа после кровопотери и восстановления двигательной активности у всех выживших крыс групп сравнения оцениваемые патологические признаки интоксикации отсутствовали, несмотря на сохранение общей слабости, вялости, бледности роговицы у всех животных, по всей

видимости, обусловленных массивной кровопотерей. Соответственно, отсутствовали и межгрупповые различия по этим качественным показателям.

В качестве наглядного примера указанным предположением в таблице 4 представлена динамика частоты дыхания у выживших животных после массивной искусственной кровопотери: в процессе посткондиционирования в Ар-ЛИГС (экспериментальные группы) и пребывания в обычных условиях газовой среды (контрольная группа). Мониторирование ЧД осуществляли визуально при просмотре замедленной в 2 раза видеосъемки.

Как следует из представленных данных, через 2 ч после кровопотери у выживших животных имели место признаки умеренного компенсаторного тахипноэ, которое расценивалось нами как следствие нарушения кислородного баланса организма в связи с острой постгеморрагической анемией. Значимые межгрупповые различия по показателю ЧД отсутствовали, так же как и случаи патологического дыхания, длительных промежутков апноэ.

На этапах дальнейшего наблюдения (4–8 ч после кровопотери) динамика ЧД имела поступательную тенденцию к снижению. При этом паттерны динамики ЧД в группах сравнения были примерно идентичными, ни на одном из этапов контрольной диагностики статистически значимых межгрупповых различий показателя не выявлено.

По нашему мнению, представленные данные свидетельствовали об отсутствии токсических эффектов у примененных лечебных искусственных дыхательных смесей с высоким содержанием аргона.



## ОБСУЖДЕНИЕ

### Интерпретация/научная значимость

Проведенные исследования позволили подтвердить наличие у аргона специфических антигипоксических и органопротекторных (прежде всего — церебропротекторных) эффектов при отсутствии признаков токсического воздействия, что было показано другими авторскими коллективами в экспериментах на животных с различными видами искусственных гипоксических состояний [15–19], в том числе — инфекционно-воспалительной природы [19].

Кроме этого, в проведенной работе показано, что гистопротекторные эффекты аргона являются дозозависимыми, поскольку наилучшие результаты получены в группе животных (экспериментальная группа 2), которые в раннем периоде после острой кровопотери находились в АрЛИГС с более высоким содержанием аргона.

### Ограничения исследования

В рамках проведенного исследования имел место фактор оперативного вмешательства (искусственная кровопотеря), проводимого под общим наркозом. Полный учет таких факторов, как успешность проведенной операции, индивидуальная переносимость животными острой кровопотери, используемого наркотического препарата, естественно, был невозможен. При этом выполнявшие оперативные вмешательства 2 хирургические бригады оперировали животных из разных групп сравнения. Исходные различия в особенностях реагирования животных на проведенные манипуляции минимизировались жесткими критериями включения, рандомизацией животных при распределении на группы, исключением из исследования животных, погибших во время или в течение 5 мин после операции, а также животных с обнаруженной после вскрытия врожденной патологией внутренних органов.

### Обобщаемость/экстраполяция

Результаты проведенного исследования согласуются с данными F. Fumagalli et al. (2020) [20], которые установили, что при длительной (до 12 мин) искусственной остановке сердца у свиней при последующем 4-часовом пребывании в АрЛИГС (концентрация аргона 50 и 70 %, кислород — остальное) повреждения головного мозга и миокарда оказались существенно меньшими по сравнению с контролем (дыхание 50 и 30 %-ной кислородной смесью в азоте). При этом максимально выраженными достигнутые эффекты были в группе животных, в которой посткондиционирование проводилось с использованием АрЛИГС с 70 %-ным содержанием аргона при меньшем содержании кислорода, чем в группе животных с 50 %-ным содержанием кислорода в аргоне.

Несмотря на значительное число эмпирических данных, свидетельствующих о биологической активности аргона, механизмы его гистопротекторных эффектов остаются

невыясненными. Описание потенциальных механизмов действия аргона получено в основном из *исследований in vitro*.

Аргон, возможно, обладает кислородоподобными свойствами за счет частичного восстановления активности дыхательных ферментов митохондрий [21]. В ряде исследований постулируется, что аргон оказывает антиапоптотическое действие, модулируя молекулярные пути, участвующие в выживании клеток. Так, показано, что аргон активирует фосфорилирование внеклеточной регулируемой сигналом киназы (ERK) 1/2, блокируя каскад апоптоза [22, 23]. Согласно другим исследованиям, аргон усиливает экспрессию антиапоптотического белка В-клеточной лимфомы-2 [24], активирует toll-подобные рецепторы 2 и 4, которые снижают активность каспазы-3 и опосредуют внутриклеточную передачу сигналов, участвующих в выработке провоспалительных цитокинов, факторов роста и выживаемости клеток [25].

Одной из распространенных теорий, описывающих клинические эффекты аргона, является положение о том, что аргон и другие более «тяжелые» благородные газы (БГ) способны образовывать соединения с водой в форме решетчатых кристаллов (клатратов), где «хозяином» являются молекулы воды, а «гостем» атомы БГ. Постулируется, что измененные физические свойства биологических жидкостей, связанные с растворением в них БГ (в частности, аргона), обеспечивают значительные сдвиги в состоянии возбудимости, транспортных процессов, метаболизма в наиболее энергетически зависимых клетках и прежде всего в нейронах и кардиомиоцитах.

По мнению Б.Н. Павлова и соавт.<sup>6</sup>, аргон может увеличивать скорость окислительных реакций путем изменения физических характеристик мембран митохондрий и цитохромов дыхательной цепи. Другая гипотеза связывает оптимизацию кислородного бюджета организма с увеличением эффективности гемодинамики в присутствии аргона [11].

Одним из вероятных представляется механизм изменения в присутствии аргона свойств гемосодержащих структур, являющихся буферными системами для кислорода в организме [21]. Кроме того, свойства гемосодержащих структур и в первую очередь гемоглобина очень сильно зависят от физико-химических характеристик внутренней среды организма, в частности от структуры воды. А газы — разбавители кислорода в дыхательной среде являются универсальными мягкими и очень быстрыми средствами изменения физических характеристик живой материи<sup>7</sup>. Так, наличие в крови плода млекопитающих фетального гемоглобина, характеризующегося высокой степенью сродства к кислороду, является древнейшим механизмом антигипоксической защиты. Увеличение сродства гемосодержащих структур к кислороду совместно

<sup>6</sup> Павлов Б.Н., Смолин В.В., Баранов В.М., Соколов Г.М., Куссмауль А.Р., Павлов Н.Б., Шереметова Н.Н., Тугушева М.П., Жданов В.Н., Логунов А.Т., Потапов В.Н. *Основы барофизиологии, водолазной медицины, баротерапии и лечения инертными газами*. Под ред. акад. А.И. Григорьева. М.: Грант Полиграф, 2008. 496 с.

<sup>7</sup> Довгуша В.В., Довгуша Л.В. *Физические механизмы физиологического и биологического действия инертных газов на организм*. СПб.: «Свое издательство», 2012. 228 с.

с прооксидантными свойствами аргона способны объяснить как полученные нами описанные выше эффекты, так и антигипоксическую активность этого газа у животных с сильными антиоксидантными механизмами.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные в нашем исследовании данные позволяют считать, что использование дыхательных смесей с высоким содержанием аргона открывает новые возможности в решении проблемы экстренного купирования острых гипоксических состояний различного генеза. При этом мы понимаем, что внедрение в практическую медицину метода аргонотерапии является трудной, многоплановой и многоступенчатой проблемой, включающей организационную, физиолого-медицинскую и техниче-

скую составляющие. Поэтому для решения данной проблемы необходим дальнейший комплекс работ и исследований, где будут уточнены и преодолены имеющиеся место препятствия, расширен спектр и длительность обследований, увеличено число пациентов и нозологических форм. Кроме этого, для решения поставленной проблемы мы считаем необходимым проведение дополнительных исследований на тканевом и клеточном уровне, уточняющих механизмы благоприятных эффектов аргона на организм. К сожалению, на настоящий момент такие исследования редки, а их результаты разноречивы. Поэтому клинико-физиологические эффекты АрЛИГС, в том числе и в данной работе, определены эмпирически, по принципу «наличия/отсутствия» значимых изменений в организме в результате воздействия данных газовых смесей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Резолюция круглого стола на тему «Вклад болезней системы кровообращения в структуру общей смертности: вопросы и проблемы» 11 мая 2016 г., Москва. *Профилактическая медицина*. 2016;19(3):58–61. <https://doi.org/10.17116/profmed201619358-61>  
Resolution of the Round Table on The Contribution of Circulatory System Diseases to the Structure of All-Cause Mortality: issues and problems, Moscow, 11 May, 2016. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2016;19(3):58–61 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/profmed201619358-61>
2. Zeppenfeld K, Tfelt-Hansen J, de Riva M, Winkel BG, Behr ER, Blom NA, Charron P, Corrado D, Dagres N, de Chillou C, Eckardt L, Friede T, Haugaa KH, Hocini M, Lambiase PD, Marijon E, Merino JL, Peichl P, Priori SG, Reichlin T, Schulz-Menger J, Sticherling C, Tzeis S, Verstraël A, Volterrani M; ESC Scientific Document Group. 2022 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Eur Heart J*. 2022;43(40):3997–4126. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac262>
3. Глезер М.Г. Половая и возрастная характеристики смертности от заболеваний системы кровообращения в Московской области. Данные 2016 года. *Кардиология*. 2019;59(1):49–56. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.1.10215>  
Glezer MG. Gender and Age Characteristics of Mortality From Diseases of the Circulatory System of the Moscow region. Data 2016 year. *Kardiologiya*. 2019;59(1):49–56 (In Russ.). <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.1.10215>
4. Gu WJ, Zhang Z, Van Poucke S. Oxygen Therapy and Ventilatory Support. *Can Respir J*. 2017;2017:2462818. <https://doi.org/10.1155/2017/2462818>
5. Alva R, Mirza M, Baiton A, Lazuran L, Samokys L, Bobinski A, Cowan C, Jaimon A, Obioru D, Al Makhoul T, Stuart JA. Oxygen toxicity: cellular mechanisms in normobaric hyperoxia. *Cell Biol Toxicol*. 2023;39(1):111–143. <https://doi.org/10.1007/s10565-022-09773-7>
6. Arieli R. Calculated risk of pulmonary and central nervous system oxygen toxicity: a toxicity index derived from the power equation. *Diving Hyperb Med*. 2019;49(3):154–160. <https://doi.org/10.28920/dhm49.3.154-160>
7. Lin M, Stewart MT, Zefi S, Mateti KV, Gauthier A, Sharma B, Martinez LR, Ashby CR Jr, Mantell LL. Dual effects of supplemental oxygen on pulmonary infection, inflammatory lung injury, and neuromodulation in aging and COVID-19. *Free Radic Biol Med*. 2022;190:247–263. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.08.004>
8. Brücken A, Bleilevens C, Föhr P, Nolte K, Rossaint R, Marx G, Fries M, Derwall M. Influence of argon on temperature modulation and neurological outcome in hypothermia treated rats following cardiac arrest. *Resuscitation*. 2017;117:32–39. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2017.05.029>
9. Koziakova M, Harris K, Edge CJ, Franks NP, White IL, 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. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.07.010>
10. Silachev DN, Boeva EA, Yakupova EI, Milovanova MA, Varnakova LA, Kalabushev SN, Antonova VV, Cherpakov RA, Ryzhkov IA, Lapin KN, Lyubomudrov MA, Grebenchikov OA. Positive Neuroprotective Effect of Argon Inhalation after Photochemically Induced Ischemic Stroke Model in Rats. *Bull Exp Biol Med*. 2023;176(2):143–149. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-05984-6>
11. Ерошенко А.Ю., Быковская Т.Ю., Иванов А.О. Адаптационные реакции кислородтранспортных систем человека при длительном пребывании в пожаробезопасной газовой среде с повышенным содержанием аргона. *Медицина катастроф*. 2019;105(1):33–37. <https://doi.org/10.33266/2070-1004-2019-1-33-37>  
Eroshenko AYU, Bykovskaya TYu, Ivanov AO. Adaptive Response of Oxygen-Transport Systems of Human Organism to Lengthy Stay in Fire-Safe Gas Environment with High Argon Content. *Disaster Medicine*. 2019;1(1):33–37 (In Russ.). <https://doi.org/10.33266/2070-1004-2019-1-33-37>
12. Иванов А.О., Беляев В.Ф., Ерошенко А.Ю., Танова А.А., Шатов Д.В., Скляр В.Н., Грошилин С.М. Характеристика физиологической адаптации человека при различных режимах пребывания в нормобарических гипоксических средах, снижающих пожароопасность объектов ВМФ. *Морская медицина*. 2020;6(2):49–58. <https://doi.org/10.22328/2413-5747-2020-6-2-49-58>  
Ivanov AO, Belyaev VF, Eroshenko AY, Tanova AA, Shatov DV, Sklyarov VN, Groshilin SM. Characteristics of physiological adaptation of human under various residence modes in normobaric hypoxic environment reducing the fire hazard of navy objects. *Marine medicine*. 2020;6(2):49–58 (In Russ.). <https://doi.org/10.22328/2413-5747-2020-6-2-49-58>
13. Nespoli F, Redaelli S, Ruggeri L, Fumagalli F, Olivari D, Ristagno G. A complete review of preclinical and clinical uses of the noble gas argon: Evidence of safety and protection. *Ann Card Anaesth*. 2019;22(2):122–135. [https://doi.org/10.4103/aca.ACA\\_111\\_18](https://doi.org/10.4103/aca.ACA_111_18)
14. Liang M, Ahmad F, Dickinson R. Neuroprotection by the noble gases argon and xenon as treatments for acquired brain injury: a preclinical systematic review and meta-analysis. *Br J Anaesth*. 2022;129(2):200–218. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2022.04.016>
15. Zhang J, Liu W, Bi M, Xu J, Yang H, Zhang Y. Noble Gases Therapy in Cardiocerebrovascular Diseases: The Novel Stars? *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:802783. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.802783>
16. Scheid S, Lejarre A, Wollborn J, Buerkle H, Goebel U, Ulbrich F. Argon preconditioning protects neuronal cells with a Toll-like receptor-mediated effect. *Neural Regen Res*. 2023;18(6):1371–1377. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.355978>
17. Zhang J, Liu W, Bi M, Xu J, Yang H, Zhang Y. Noble Gases Therapy in Cardiocerebrovascular Diseases: The Novel Stars? *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:802783. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.802783>
18. Scheid S, Goebel U, Ulbrich F. Neuroprotection Is in the Air-Inhaled Gases on Their Way to the Neurons. *Cells*. 2023;12(20):2480. <https://doi.org/10.3390/cells12202480>
19. Balsamo F, Li B, Chusilp S, Lee D, Biouss G, Lee C, Maynes JT, Pierro A. Argon inhalation attenuates systemic inflammation and rescues lung architecture during experimental neonatal sepsis. *Pediatr Surg Int*. 2023;40(1):21. <https://doi.org/10.1007/s00383-023-05596-7>
20. Fumagalli F, Olivari D, Boccardo A, De Giorgio D, Affatato R, Ceriani S, Bariselli S, Sala G, Cucino A, Zani D, Novelli D, Babini G, Ma-

- gliocca A, Russo I, Staszewsky L, Salio M, Lucchetti J, Maisano AM, Fiordaliso F, Furlan R, Gobbi M, Luini MV, Pravettoni D, Scanziani E, Belloli A, Latini R, Ristagno G. Ventilation With Argon Improves Survival With Good Neurological Recovery After Prolonged Untreated Cardiac Arrest in Pigs. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(24):e016494. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.016494>
21. David HN, Haelewyn B, Degoulet M, Colomb DG Jr, Risso JJ, Abraini JH. 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>
22. Fahlenkamp AV, Rossaint R, Haase H, Al Kassam H, Ryang YM, 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. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.10.045>
23. Ulbrich F, Kaufmann KB, Coburn M, Lagrèze WA, Roesslein M, Biermann J, Buerkle H, Loop T, Goebel U. Neuroprotective effects of 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. <https://doi.org/10.1111/jnc.13115>
24. Zhao H, Mitchell S, Koumpa S, Cui YT, Lian Q, Hagberg H, Johnson MR, Takata M, Ma D. Heme Oxygenase-1 Mediates Neuroprotection Conferred by Argon in Combination with Hypothermia in Neonatal Hypoxia-Ischemia Brain Injury. *Anesthesiology.* 2016;125(1):180–192. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000001128>
25. Ulbrich F, Kaufmann K, Roesslein M, Wellner F, Auwärter V, Kempf J, Loop T, Buerkle H, Goebel U. 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>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Кочубейник Николай Владимирович** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-7990-9991>

**Иванов Андрей Олегович** — доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель общества с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский институт геропротекторных технологий».

<https://orcid.org/0000-0002-8364-9854>

**Петров Василий Александрович** — кандидат технических наук, генеральный директор общества с ограниченной ответственностью «Научно-исследовательский институт геропротекторных технологий».

<https://orcid.org/0000-0001-8523-8031>

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Nikolay V. Kochubeinik** — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Anesthesiology and Resuscitation, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-7990-9991>

**Andrey O. Ivanov** — Dr. Sci. (Med.), Prof., Leading Researcher, Research Institute of Geroprotective Technologies, Saint Petersburg, Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-8364-9854>

**Vasily A. Petrov** — Cand. Sci. (Engineering), CEO, Research Institute of Geroprotective Technologies, Saint Petersburg, Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-8523-8031>

**Грошили Виталий Сергеевич** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней № 2 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<http://orcid.org/0000-0001-9927-8798>

**Танова Анастасия Андреевна** — аспирант кафедры нервных болезней и нейрохирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-3765-8714>

**Гостев Вячеслав Русланович** — студент федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0009-0008-7845-0294>

**Vitaly S. Groshilin** — Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Department of Surgical Diseases No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

<http://orcid.org/0000-0001-9927-8798>

**Anastasia A. Tanova** — Research Assistant, Department of Nervous Diseases and Neurosurgery, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

<http://orcid.org/0000-0003-3765-8714>

**Vyacheslav R. Gostev** — Student, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

<https://orcid.org/0009-0008-7845-0294>