https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-4-564-572

BY 4.0

Влияние ксенона на фосфорилирование киназы гликогенсинтазы-3ß и антиоксидантные ферменты в мозге крыс

А.Н. Кузовлев[1], А.И. Шпичко[1]*, И.А. Рыжков[1], О.А. Гребенчиков[1], А.К. Шабанов[1, 2], Ш.Ж. Хусаинов[1, 2], З.И. Цоколаева[1], А.В. Лобанов[3]

Лаборатория органопротекции при критических состояниях
[1] ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии»
Российская Федерация, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2
[2] ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»
Российская Федерация, 129090, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3
[3] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
Российская Федерация, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

*** Контактная информация:** Шпичко Андрей Иванович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории органопротекции при критических состояниях ФНКЦ РР. Email: shpichko.a@yandex.ru

АКТУАЛЬНОСТЬ Увеличение числа тяжелых повреждений головного мозга вследствие инсульта и черепно-мозговой травмы определяет необходимость изучения и разработки эффективных стратегий нейропротекции. В статье освещены новые механизмы нейропротекторного действия ингаляционного анестетика ксенона по данным собственных экспериментальных исследований.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ Оценить влияние наркоза ксеноном в концентрации 0,5 МАК (минимальная альвеолярная концентрация) на фосфорилирование киназы гликогенсинтазы-3β (ГСК-3β) и содержание ферментов антиоксидантной защиты в головном мозге крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ Проведено изучение влияния ингаляционного наркоза ксеноном на фосфорилирование фермента ГСК-3β в сравнении с таковым хлорида лития, а также на содержание гемоксигеназы, каталазы и Mn-супероксиддисмутазы в гомогенатах головного мозга крыс методом иммуноблоттинга.

РЕЗУЛЬТАТЫ Применение ксенона в концентрации 0,5 МАК вызывает почти двукратный рост содержания фосфорилированной формы фермента ГСК-3β по сравнению с контролем (p<0,05) и значимо увеличивает пул ферментов антиоксидантной защиты: гемоксигеназы на 50% (p<0,05) и Mn-супероксиддисмутазы на 60% (p<0,05).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ Проведенное экспериментальное исследование выявило новые молекулярные механизмы действия ингаляционного анестетика ксенона. Обнаружено влияние ксенона на пул ферментов, участвующих в защите мозга от окислительного дистресса. Полученные данные указывают на перспективность использования ксенона и требуют дальнейших исследований в данном направлении.

ВЫВОДЫ Применение ксенона в концентрации 50 об.% (0,5 МАК) в течение 30 минут не влияет на содержание фермента гликогенсинтазы-3β, в то же время вызывая почти двукратный рост его фосфорилированной формы — фермента гликогенсинтазы-3β, и сопровождается значимым увеличением содержания гемоксигеназы, Mn-супероксиддисмутазы и незначительным увеличением содержания каталазы в гомогенатах головного мозга крыс. Таким образом, результаты исследования позволяют предположить, что одним из возможных механизмов нейропротекторного действия ксенона является фосфорилирование гликогенсинтазы-3β, которое препятствует открытию митохондриальной поры, тормозя опосредованный гибелью митохондрий апоптоз нейронов и увеличивая в них уровень антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: ксенон, нейропротекция, киназа гликогенсинтазы-3β (ГСК-3β), гемоксигеназа, Mn-супероксиддисмутаза

Ссылка для цитирования Кузовлев А.Н., Шпичко А.И., Рыжков И.А., Гребенчиков О.А., Шабанов А.К., Хусаинов Ш.Ж. и др. Влияние ксенона на фосфорилирование киназы гликогенсинтазы-3β и антиоксидантные ферменты в мозге крыс. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь.* 2020;9(4):564–572. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-4-564-572

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование Исследование не имеет спонсорской поддержки

в/б — внутрибрюшинно
ГСК-3β — киназа гликогенсинтаза-3β
КОС — кислотно-основное состояние
МАК — минимальная альвеолярная концентрация
отн. ед. — относительные единицы

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место среди причин смертности во всем мире, а ишемическому инсульту принадлежит в этом второе место, уступая лишь ишемической болезни сердца. Только в Российской Федерации от него страдают более 450 тыс. человек в год [1]. Своевременно оказанная квалифицированная медицинская помощь способствует уменьшению числа смертельных исходов, однако инвалидность среди выживших после инсульта занимает первое место среди причин первичной инвалидности [2, 3].

Другой, не менее значимой медико-социальной проблемой, является рост числа черепно-мозговых травм, считающихся наиболее распространенной причиной инвалидности и смертности среди лиц молодого трудоспособного возраста [4–6]. В Российской Федерации ежегодно регистрируют порядка 600 тыс. случаев черепно-мозговой травмы, из которых более 50 тыс. человек погибают, а около 240 тыс. инвалидизируются [7]. Таким образом, разработка новых методик нейропротекции при тяжелых повреждениях мозга различного генеза является одной из важнейших задач в терапии критических состояний. Однако существующие сегодня методы нейропротекции недостаточно эффективны, что подтверждено клиническими испытаниями [8, 9].

Согласно большому числу экспериментальных работ, выраженным нейропротекторным свойством обладает ингаляционный анестетик ксенон [10–14]. Ксенон — это инертный газ, который находится в атмосфере в незначительных количествах — $8{,}7 \cdot 10^{-6}$ об.% [15].

Об анестетических свойствах ксенона было сообщено после его применения в опытах на животных в 1946 г. [16], а в 1951 г. Каллен и Гросс использовали его в качестве анестетика при проведении хирургических операций у человека [17]. В 2000 г. благодаря работам отечественных исследователей было получено разрешение на клиническое использование ксенона в России, тогда как в Западной Европе его начали применять для общей анестезии лишь с 2005 г. [18].

Кроме анестетического эффекта у ксенона были обнаружены свойства нейропротектора [19–21], а механизмы нейропротекции объяснены блокадой рецепторов N-метил-d-аспартата (NMDA-рецепторов) [22]. NMDA-рецепторы обеспечивают такие важные функции, как синаптическая пластичность, формирование памяти, контроль настроения, мотивация вознаграждений, развитие мозга и выживание нейронов [23–25]. Гиперактивность NMDA-рецепторов в патологических условиях может привести к гибели нейронов в результате эксайтотоксичности [26]. Высокие дозы глутамата вызывают гиперактивацию NMDA-рецепторов и рецепторов α-амино-3-гидрокси-5-метилизоксазолпропионовой кислоты (AMPA-рецепторов), что приводит к избыточному поступлению кальция в нейроны [27, 28].

Механизмы, посредством которых чрезмерный приток кальция приводит к апоптозу, сложны и не до конца понятны. В недавних исследованиях показано значение в этом митохондриальной дисфункции, избыточной продукции активных форм кислорода и активации кальпаинового каскада [29]. Что касается механизмов реализации нейропротекторных свойств ксенона, то они не могут быть объяснены только блокадой NMDA-рецепторов и уменьшением глутаматной эксайтотоксичности. Согласно данным недавних исследований, реализация патологического каскада глутаматной эксайтотоксичности осуществляется в первые минуты и часы после повреждения головного мозга. Апоптоз же нейронов и глии в зоне пенумбры происходит в первые 24–72 часа после повреждения, и поэтому представляется таким важным изучение молекулярных механизмов нейропротекции ксеноном в этот период [30].

Данные экспериментальных исследований показали, что на роль ключевого фермента, обеспечивающего нейропротекцию, может претендовать гликоген синтаза-киназа 3β (ГСК-3β). Фосфорилирование этого фермента предотвращает индукцию митохондриальной поры, вследствие чего уменьшается апоптоз нейронов и ограничивается воспаление в зоне повреждения [31, 32].

Инертный газ ксенон относят к классу ингаляционных газообразных анестетиков, молекулярные механизмы реализации защитных свойств которого на мозг во многом остаются неизвестными.

Цель исследования — оценить влияние наркоза ксеноном на фосфорилирование ГСК-3β и содержание ферментов антиоксидантной защиты в головном мозге крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

ПЕРВЫЙ ЭТАП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ (ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГАЛЯЦИОННОГО НАРКОЗА КСЕНОНОМ НА ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ГСК-3ß В СРАВНЕНИИ С ДЕЙСТВИЕМ НА НЕЕ ЛИТИЯ ХЛОРИДА)

1. Лабораторное животное и условия эксперимента.

Крыса-самец линии *Sprague Dawley*. Масса животного: 450–500 г.

Эксперимент проводили в соответствии с принятыми национальными и международным стандартами:

— Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.);

— директива 2010/63/*EU* Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях;

— ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур;

— ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

2. Анестезия.

6% раствор хлоралгидрата в 0,9% растворе хлористого натрия. Хлоралгидрат 300 мг/кг внутрибрюшинно (в/б) в конце эксперимента как компонент эвтаназии перед забором внутренних органов.

Подготовка животного и процедуры.

Животное помещали в прозрачную индукционную камеру наркозного аппарата *Combi-Vet,* соединенную с помощью тройника с ксеноновой наркозной приставкой КНП-01 и кислородным компрессором. В ходе эксперимента сохраняли самостоятельное дыхание.

3. Группы животных.

I группа (n=4) — «ксенон». В течение 30 минут в индукционную камеру наркозного аппарата, где находилась крыса, подавали газовую смесь с потоком газов: 95% кислород — 0,5 л/мин, 100% ксенон — 0,5 л/мин.

Концентрация газов в смеси на входе в камеру: кислород — 40–45%, ксенон — 50–55%. «Отработанная» газовая смесь пассивно отводилась через адсорбер ксенона наружу.

II группа (*n*=4) — «литий». За 30 минут до помещения животного в камеру наркозного аппарата вводили 4,2% раствор хлористого лития в дозе 50 мг/кг в/б. Затем в течение 30 минут в индукционную камеру наркозного аппарата, где находилась крыса, подавали кислородно-воздушную смесь (50% кислорода) — 1,0 л/мин. Отработанная газовая смесь пассивно отводилась из камеры наружу.

III группа (*n*=4) — «контроль». В течение 30 минут в индукционную камеру наркозного аппарата, где находилась крыса, подавали газовую смесь с потоком газов: кислородно-воздушная смесь (50% кислорода) — 1,0 л/мин. Отработанная газовая смесь пассивно отводилась наружу.

4. Эвтаназия и забор органов.

Через 5 минут после инъекции хлоралгидрата и достижения хирургической стадии наркоза, животному выполняли торакотомию. Осуществляли забор пробы крови из левого желудочка для анализа кислотно-основного состояния крови (КОС) (у части животных). Затем выполняли краниотомию и извлечение мозга из черепной коробки. Органы целиком обертывали в фольгу, маркировали и замораживали в жидком азоте. Хранение и транспортировку образцов в лабораторию осуществляли в термосе с жидким азотом.

ВТОРОЙ ЭТАП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ (ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНГАЛЯЦИОННОГО НАРКОЗА КСЕНОНОМ НА ФЕРМЕНТЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТКИ)

1. Группы животных.

I группа (*n*=4) — «ксенон». В течение 30 минут в индукционную камеру наркозного аппарата, где находилась крыса, подавали газовую смесь с потоком газов: 95% кислород — 0,5 л/мин, 100% ксенон — 0,5 л/мин. Концентрация газов в смеси на входе в камеру: кислород — 40–45%, ксенон — 50–55%. Отработанная газовая смесь пассивно отводилась через адсорбер ксенона наружу.

II группа (*n*=4) — «контроль». В течение 30 минут в индукционную камеру наркозного аппарата, где находилась крыса, подавали газовую смесь с потоком газов: кислородно-воздушная смесь (50% кислорода) — 1,0 л/мин. Отработанная газовая смесь пассивно отводилась наружу.

2. Эвтаназия и забор органов.

Через 5 минут после в/б инъекции хлоралгидрата и достижения хирургической стадии наркоза животному выполняли торакотомию. Осуществляли забор пробы крови из левого желудочка для анализа КОС. Затем выполняли краниотомию и извлечение мозга из черепной коробки. Излишки жидкости с поверхности органов убирали промокательной бумагой. Органы целиком обертывали в фольгу, маркировали и замораживали в жидком азоте. Хранение и транспортировку образцов в лабораторию осуществляли в термосе с жидким азотом.

ТРЕТИЙ ЭТАП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ (ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТА ГСК-3ß, ГЕМОКСИГЕНАЗЫ, Mn-СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА)

1. Определение концентрации белка.

Определение концентрации белка в гомогенатах ткани во всех опытах выполняли по методу, основанному на колориметрической реакции бицинхониновой кислоты с белками. Для определения использовали раствор следующего состава: натриевая соль бицинхониновой кислоты (*Sigma Chemical Co.*, США), натрий виннокислый (*Sigma Chemical Co.*, США), 0,95% гидрокарбонат натрия (реагент *A*) и 4% смесь сернокислой меди с водой в соотношении 1:5 (реагент *B*), который готовили непосредственно перед измерением концентрации белка, смешивая исходные реагенты А и В в соотношении 50:1. К аликвоте 50 мкл анализируемого образца добавляли 1 мл раствора для определения, перемешивали и инкубировали 30 минут при 37°С, после чего определяли оптическую плотность раствора при 562 нм в акриловой кювете на спектрофотометре *Hitachi*-557 (*Hitachi Ltd.*, Япония).

Концентрацию белка в анализируемом образце определяли по калибровочной кривой с помощью программного обеспечения *SigmaPlot* 2000. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали коммерческий препарат бычьего сывороточного альбумина («Fermentas») с концентрацией 2 мг/мл.

2. Вестерн-блоттинг.

Гомогенат растворяли в буфере, содержащем 0,125 М Трис-HCl (pH 6,8), 4% додецилсульфата натрия (*Sigma Chemical Co.*, США), 20% глицерина, 0,005% бромфенола синего (*Sigma Chemical Co.*, США) и 10% 2β-меркаптоэтанола (*Merck*, Германия). Образцы кипятили 2 минуты на водяной бане и вносили в 15% Трис-глициновый полиакриламидный гель в концентрации 50 мг белка на лунку. Электрофорез проводили при постоянном токе 10 мА в режиме концентрирования и 15 мА в режиме разделения. По окончании электрофореза переносили белки на *PVDF* мембрану *(Amersham Pharmacia Biotech, UK)*. Мембраны блокировали в 5% обезжиренном молоке на 0,1% фосфатном буфере, а затем инкубировали с первичными антителами против GSK3β (*mouse monoclonal anti-total*-GSK3β 1:1000, *Cell Signaling*, *USA*), фосфорилированной формы GSK3β (*mouse monoclonal anti-P*-GSK3β 1:1000, *Cell Signaling*, *USA*), гемоксигеназы, Mn-супероксиддисмутазы и каталазы. Затем мембраны инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (*Calbiochem*, *USA*), в разведении 1:10000. Детекцию связанных антител проводили с помощью хемилюминесцентного субстрата пероксидазы хрена *ECL* (*Enhanced chemiluminescence system*, *Amersham Pharmacia Biotech*, *UK*). Хемилюминесценция детектировалась на фотопленку. Отсканированные изображения анализировали с помощью программы *ImageJ* (*NIH*, *Bethesda*, *MD*, *USA*). Интенсивность сигнала белка P-GSK3β нормализовали к интенсивности общего белка GSK3β для каждой полосы. Количественное содержание фосфорилированной формы ГСК-3β, гемоксигеназы, Mn-супероксиддисмутазы и каталазы выражали в относительных единицах (отн. ед.)

Статистическую обработку данных проводили в программе *Statistica* 7.0 с использованием *U*-теста Манна–Уитни. Значимыми считались различия на уровне $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ АНЕСТЕЗИИ КСЕНОНОМ И ХЛОРИДА ЛИТИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ГСК-3ß В ГОМОГЕНАТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Опыты показали, что во всех исследованных сериях (контроль, ксенон, литий) суммарное содержание ГСК-3β не менялось, оставаясь на уровне 80–90 отн.

ед. хемилюминесценции. Хлорид лития (наиболее изученный ингибитор фермента ГСК-3β) в дозе 50 мг/кг в/б был использован в качестве положительного контроля.

Результаты исследований показали, что все изменения содержания обсуждаемого фермента (ГСК-3β) произошли за счет процесса фосфорилирования/дефосфорилирования.

В группе «Ксенон», где для ингаляционной анестезии был применен ксенон в концентрации 50 об% (0,5 минимальной альвеолярной концентрации, МАК) отмечен почти двукратный рост содержания фосфорилированной формы фермента ГСК-3β по сравнению с контролем (группа «Контроль») (p<0,05).

В группе «Литий», где в качестве положительного контроля был применен хлорид лития (LiCl 4,2%) в дозе 50 мг/кг в/б отмечен почти двукратный рост содержания фосфорилированной формы фермента ГСК-3β по сравнению с контролем (группа «Контроль»)(p<0,05) (рис. 1).

Результаты нашего исследования показали, что применение ксенона в концентрации 0,5 МАК не влияет на содержание фермента ГСК-3β в гомогенатах головного мозга крыс, но сопровождается практически двукратным статистически значимым увеличением, сопоставимо с результатами воздействия лития хлорида, содержания его фосфорилированной (инактивированной) формы по сравнению с данными контроля (p<0,05).

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ АНЕСТЕЗИИ КСЕНОНОМ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЕМОКСИГЕНАЗЫ В ГОМОГЕНАТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Результаты исследования показали, что ингаляционный наркоз ксеноном 30 минут — 50 об.% (0,5 МАК) сопровождался статистически значимым увеличением на 50% (p<0,05) содержания гемоксигеназы в гомогенатах головного мозга крыс (рис. 2).

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ АНЕСТЕЗИИ КСЕНОНОМ НА СОДЕРЖАНИЕ КАТАЛАЗЫ В ГОМОГЕНАТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Результаты исследования показали, что ингаляционный наркоз ксеноном — 50 об.% (0, 5 МАК) в течение 30 минут сопровождался статистически незначимым увеличением на 20% (p>0,05) содержания каталазы в гомогенатах головного мозга крыс (рис. 3).

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ АНЕСТЕЗИИ КСЕНОНОМ НА СОДЕРЖАНИЕ Mn-СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ГОМОГЕНАТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Результаты исследованияй показали, что ингаляционный наркоз ксеноном 30 минут — 50 об.% (0,5 МАК) сопровождался статистически значимым увеличением на 60% (p<0,05) содержания Mn-супероксиддисмутазы в гомогенатах головного мозга крыс (рис. 4).

Гликоген синтаза-киназа-3, GSK-3 — фермент, отвечающий за процесс фосфорилирования остатков серина и треонина в различных белках. Существование GSK-3 было впервые открыто при изучении метаболизма гликогена [33]. Позже было установлено, что изофермент ГСК-3β регулирует иммунные и миграционные процессы и является ключевым ферментом, обеспечивающим защиту клеток от ишемии/реперфузии. Фосфорилирование этого фермента предотвращает индукцию митохондриальной поры и обеспечивает защиту постмитотических клеток (нейронов,

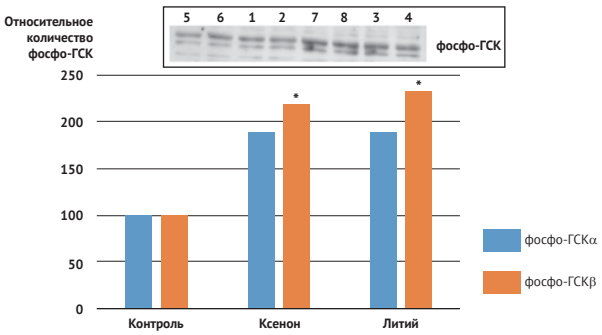

Рис. 1. Данные обсчета иммуноблота для фосфорилированной формы фермента ГСК-3β в гомогенатах мозга крыс, 30 минут подвергавшихся наркозу ксеноном
Примечания: группа «Контроль» — внутрибрюшинно хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг массы тела; группа «Ксенон» — ксенон в концентрации порядка 0,5 минимальных альвеолярных концентраций (МАК); группа «Литий» — хлорид лития (LiCl 4,2%) в дозе 50 мг/кг внутрибрюшинно
Fig. 1. Immunoblot calculation data for the phosphorylated form of the GSK-3β enzyme in rat brain homogenates exposed to xenon anesthesia for 30 minutes
Notes: group "Control" — intraperitoneally chloral hydrate at a dose of 300 mg/kg body weight; group "Xenon" — xenon in a concentration of about 0.5 minimum alveolar concentrations (MAC); group "Lithium" — lithium chloride (LiCl 4.2%) at a dose of 50 mg/kg intraperitoneally

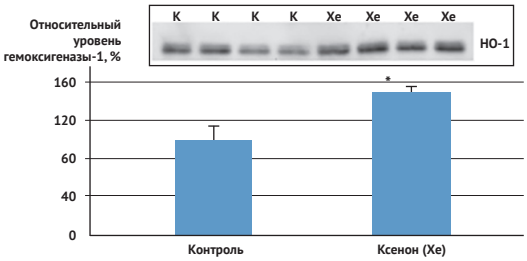

Рис. 2. Данные обсчета иммуноблота для фермента гемоксигеназы в гомогенатах мозга крыс, 30 минут подвергавшихся наркозу ксеноном (n=4, Группа «Ксенон»)
Примечания: группа К — «Контроль», внутрибрюшинно хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг массы тела; группа «Ксенон» (Хе) — ксенон в концентрации порядка 0,5 МАК
Fig. 2. Data of the immunoblot calculation for the heme oxygenase enzyme in rat brain homogenates exposed to xenon anesthesia for 30 minutes (n=4, Xenon Group)
Notes: group C — "Control", intraperitoneal chloral hydrate at a dose of 300 mg/kg body weight; group "Xenon" (Xe) — xenon in a concentration of about 0.5 minimum alveolar concentrations (MAC)

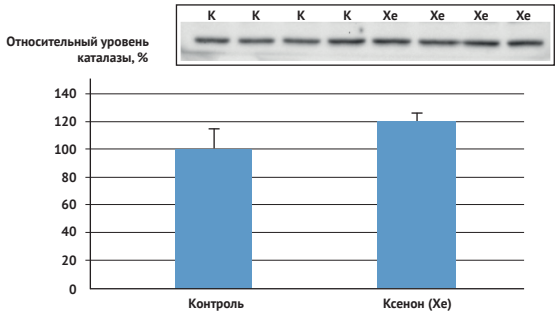

Рис 3. Данные обсчета иммуноблота для фермента каталазы в гомогенатах мозга крыс
Примечания: группа «Контроль» — внутрибрюшинно хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг массы тела, группа «Ксенон (Хе)» — ксенон в концентрации порядка 0,5 МАК
Fig. 3. Data of the immunoblot calculation for the catalase enzyme in rat brain homogenates
Notes: group "Control" — intraperitoneal chloral hydrate at a dose of 300 mg/kg body weight, group "Xenon (Xe)" — xenon at a concentration of about 0.5 minimum alveolar concentrations (MAC)

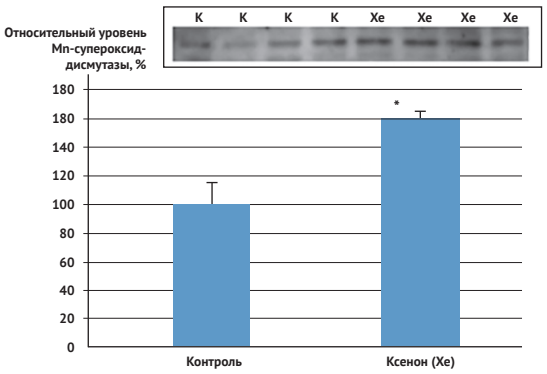

Рис. 4. Данные обсчета иммуноблота для фермента Mn-супероксиддисмутазы в гомогенатах мозга крыс
Примечания: группа К — «Контроль» — внутрибрюшинно хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг массы тела, группа «Ксенон» (Xe)— ксенон в концентрации порядка 0,5 МАК
Fig. 4. Immunoblot calculation data for the Mn-superoxide dismutase enzyme in rat brain homogenates
Notes: group C — "Control" — intraperitoneally chloral hydrate at a dose of 300 mg/kg of body weight, group "Xenon" (Xe) — xenon at a concentration of about 0.5 minimum alveolar concentrations (MAC)

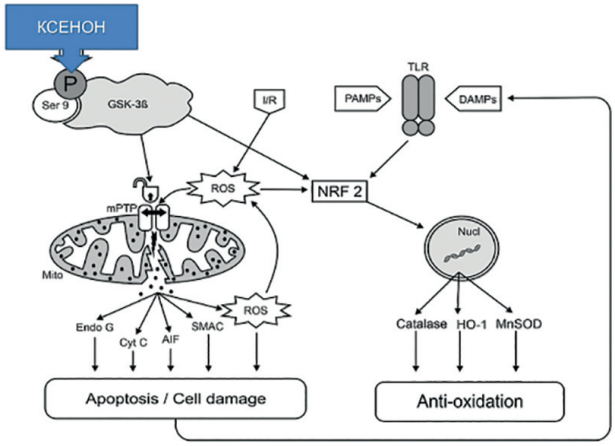

Рис 5. Ксенон фосфорилирует (инактивирует) ГСК-3β — ключевой фермент в реализации механизмов клеточного повреждения и системной воспалительной реакции. Фосфорилирование ГСК-3β препятствует открытию митохондриальной поры и выходу в цитозоль факторов апоптоза (*AIF*, *Cyt C*, *Endo G*, *SMAC*). Фосфорилирование ГСК-3β приводит к росту уровня ядерного транскрипционного фактора Nrf2 в клетках, действие которого сопровождается повышением уровня ферментов антиоксидантной защиты клетки (*HO*-1, Mn*SOD*, каталазы).
Примечания: *AIF* — апоптоз-индуцирующий фактор; *Cat* — каталаза; *ROS* — активные формы кислорода; *Cyt C* — цитохром *C*; *DAMP* — ассоциированный с повреждением молекулярный паттерн; *Endo G* — эндонуклеаза *G*; *I/R*— ишемия-реперфузия; *Mito* — митохондрии; Mn*SOD* — митохондриальная Mn-супероксиддисмутаза; mPTP— пора неспецифической митохондриальной проницаемости; *HO*-1 — гемоксигеназа; *SMAC* — апоптотический белок; *PAMP* — патоген-ассоциированный молекулярный паттерн; *Ser* 9 — остаток аминокислоты серина 9; *TLR* — толл-подобный рецептор;
Fig. 5. Xenon phosphorylates (inactivates) GSK-3β — a key enzyme in the implementation of mechanisms of cellular damage and systemic inflammatory response. Phosphorylation of GSC-3β prevents the opening of the mitochondrial pore and the release of apoptosis factors (AIF, Cyt C, Endo G, SMAC) into the cytosol. Phosphorylation of GSK-3β leads to an increase in the level of the nuclear transcription factor Nrf2 in cells, the action of which is accompanied by an increase in the level of antioxidant enzymes of the cell (HO-1, MnSOD, catalase).
Notes: AIF — apoptosis-inducing factor; Cat — catalase; ROS — reactive oxygen species; Cyt C — cytochrome C; DAMP — damage-associated molecular pattern; Endo G — endonuclease G; I/R — ischemia-reperfusion; Mito — mitochondria; MnSOD, mitochondrial Mn superoxide dismutase; mPTP — time of non-specific mitochondrial permeability; HO-1 — heme oxygenase; SMAC — apoptotic protein; PAMP — pathogen-associated molecular pattern; Ser 9 — Serine 9 amino acid residue; TLR — toll-like receptor

кардиомиоцитов, клеток почки) от ишемии/реперфузии [34].

Известно, что галогенсодержащие ингаляционные анестетики оказывают защитный эффект на головной мозг благодаря эффекту анестетического прекондиционирования [35, 36].

В наших предыдущих исследованиях было показано, что прекондиционирование севофлураном в концетрации 1,5–2 МАК приводит к статистически значимому увеличению содержания фосфорилированной формы ГСК-3β (фосфо-ГСК-3β) в 2 раза (p<0,05) и защищает нейроны в головном мозге крыс (уменьшает гибель нейронов в поле *C*1 гиппокампа на 45% (p=0,007) во время ишемии/реперфузии [37, 38].

Недавнее исследование показало, что применение лития хлорида в постреанимационном периоде вызывает статистически значимое увеличение фосфорилирования ГСК-3β в мозге крыс на 180% (p<0,05) и уменьшает гибель нейронов в поле *C*1 гиппокампа на 37% (p=0,01), а в поле *C*3/*C*4 — на 12% (p<0,05) [39].

На сегодняшний день известно, что Nrf2 (ядерный фактор транскрипции НРФ-2; англ. *nuclear factor erythroid* 2-*related factor* 2) является мастер-регулятором уровня ферментов антиоксидантной защиты клетки (гемоксигеназы, супероксиддисмутазы, глутатион-пероксидазы, каталазы и др.). В этой связи представляют большой интерес и недавние исследования, в которых было показано влияние ГСК-3β на Nrf2 и антиоксидантную защиту клеток [40, 41]. Результаты этих исследований показали, что фосфорилирование ГСК-3β вызывает статистически значимое повышение уровня транскрипционного фактора Nrf2 на 50% (p<0,05) в нейрональных клетках и на 75% (p<0,05) — в гепатоцитах.

Результатами нашего исследования установлено, что применение ксенона в концентрации 0,5 МАК вызывает почти двукратный статистически значимый рост содержания фосфорилированной формы фермента ГСК-3β по сравнению с контролем (p<0,05) и статистически значимо увеличивает пул ферментов антиоксидантной защиты: гемоксигеназы — на 50% (p<0,05) и Mn-супероксиддисмутазы — на 60% (p<0,05).

Результаты исследования позволяют предположить, что одним из возможных механизмов нейропротекторного действия ксенона является фосфорилирование ГСК-3β, которое препятствует открытию митохондриальной поры, торможению опосредованного гибелью митохондрий апоптоза нейронов и увеличению в них уровня антиоксидантной защиты (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное экспериментальное исследование обнаружило новые молекулярные механизмы действия ингаляционного анестетика ксенона, которые реализуются через фосфорилирование гликогенсинтазы-3β и увеличение пула ферментов, участвующих в антиоксидантной защите головного мозга. Полученные

Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care. 2020;9(4):564–572. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-4-564-572

в настоящем эксперименте данные указывают на перспективность использования ксенона и требуют продолжения дальнейших исследований в данном направлении.

ВЫВОДЫ

Применение ксенона в концентрации 50 об.% (0,5 МАК) в течение 30 минут не влияет на содержание фермента гликогенсинтазы-3β, в то же время вызывая почти двукратный рост его фосфорилированной формы — фермента гликогенсинтазы-3β, и сопровождается значимым увеличением содержания гемоксигеназы, Mn-супероксиддисмутазы и незначительным увеличением содержания каталазы в гомогенатах головного мозга крыс. Таким образом, результаты исследования позволяют предположить, что одним из возможных механизмов нейропротекторного действия ксенона является фосфорилирование гликогенсинтазы-3β, которое препятствует открытию митохондриальной поры, тормозя опосредованный гибелью митохондрий апоптоз нейронов и увеличивая в них уровень антиоксидантной защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виленский Б.С., Яхно Н.Н. Современное состояние проблемы инсульта. *Вестник Российской АМН*. 2006; (9–10):18–23.
2. Шевченко Е.В., Рамазанов Г.Р., Петриков С.С. Причины головокружения у больных с подозрением на острое нарушение мозгового кровообращения. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2018;7(3):217–221. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2018-7-3-217-221
3. Пирадов М.А., Крылов В.В., Белкин А.А., Петриков С.С. Инсульты. В кн.: Б.Р. Гельфанд, И.Б. Заболотских (ред.) *Интенсивная терапия. Национальное руководство*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2017. Гл. 2. с. 288–309.
4. Крылов В.В., Петриков С.С., Талыпов А.Э., Пурас Ю.В., Солодов А.А., Левченко О.В. и др. Современные принципы хирургии тяжелой черепно-мозговой травмы. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2013;(4):39–47.
5. Hackenberg K, Unterberg A. Schädel-Hirn-Trauma. *Nervenarzt*. 2016;87(2):203–216. PMID: 26810405 https://doi.org/10.1007/s00115-015-0051-3
6. Vella MA, Crandall ML, Patel MB. Acute Management of Traumatic Brain Injury. *Surg Clin North Am*. 2017;97(5):1015–1030. PMID: 28958355 https://doi.org/10.1016/j.suc.2017.06.003
7. Шабанов А.К., Картавенко В.И., Петриков С.С., Марутян З.Г., Разумный П.А., Черненькая Т.В. и др. Тяжелая сочетанная черепно-мозговая травма: особенности клинического течения и исходы. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2017;6(4):324–330. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2017-6-4-324-330
8. Janowitz T, Menon DK. Exploring new routes for neuroprotective drug development in traumatic brain injury. *Sci Transl Med*. 2010;2(27):27rv1. PMID: 20393189 https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000330
9. Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В. Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2019;15(3):73–82. https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
10. Campos-Pires R, Koziakova M, Yonis A, Pau A, Macdonald W, Harris K, et al. Xenon Protects against Blast-Induced Traumatic Brain Injury in an In Vitro Model. *J Neurotrauma*. 2018;35(8):1037–1044. PMID: 29285980 https://doi.org/10.1089/neu.2017.5360
11. Lavaur J, Le Nogue D, Lemaire M, Pype J, Farjot G, Hirsch EC, et al. The noble gas xenon provides protection and trophic stimulation to midbrain dopamine neurons. *J Neurochem*. 2017;142(1):14–28. PMID: 28398653 https://doi.org/10.1111/jnc.14041
12. Miao YF, Peng T, Moody MR, Klegerman ME, Aronowski J, Grotta J, et al. Delivery of xenon-containing echogenic liposomes inhibits early brain injury following subarachnoid hemorrhage. *Sci Rep*. 2018;8(1):450. PMID: 29323183 https://doi.org/10.1038/s41598-017-18914-6
13. Yang YW, Wang YL, Lu JK, Klegerman ME, Aronowski J, Grotta J, et al. Delayed xenon post-conditioning mitigates spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits by regulating microglial activation and inflammatory factors. *Neural Regen Res*. 2018;13(3):510–517. PMID: 29623938 https://doi.org/10.4103/1673-5374.228757
14. Veldeman M, Coburn M, Rossaint R, Clusmann H, Nolte K, Kremer B, et al. Xenon Reduces Neuronal Hippocampal Damage and Alters the Pattern of Microglial Activation after Experimental Subarachnoid Hemorrhage: A Randomized Controlled Animal Trial. *Front Neurol*. 2017;8:511. PMID: 29021779 https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00511
15. Гринвуд Н., Эрншо А. *Химия элементов:* в 2 т. 3-е изд. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2015. Т. 2. с. 233.
16. Lawrence JH, Loomis WF, Tobias CA, Turpin FH. Preliminary observations on the narcotic effect of xenon with a review of values for solubilities of gases in water and oils. *J Physiol*. 1946;105(3):197–204. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1946.sp004164
17. Cullen SC, Gross EG. The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton. *Science*. 1951;113(2942):580-582. PMID: 14834873 https://doi.org/10.1126/science.113.2942.580
18. Буров Н.Е., Потапов В.Н., Макеев Г.Н. *Ксенон в анестезиологии*. Москва: Пульс; 2000.
19. Wilhelm S, Ma D, Maze M, Franks NP. Effects of xenon on in vitro and in vivo models of neuronal injury. *Anesthesiology*. 2002;96(6):1485–1491. PMID: 12170064 https://doi.org/10.1097/00000542-200206000-00031
20. Homi HM, Yokoo N, Ma D, Warner DS, Franks NP, Maze M, et al. The neuroprotective effect of xenon administration during transient middle cerebral artery occlusion in mice. *Anesthesiology*. 2003;99(4):876–881. PMID: 14508320 https://doi.org/10.1097/00000542-200310000-00020
21. Banks P, Franks NP, Dickinson R. Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor mediates xenon neuroprotection against hypoxia-ischemia. *Anesthesiology*. 2010;112(3):614–622. PMID: 20124979 https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181cea398
22. Franks NP, Dickinson R, de Sousa SL, Hall AS, Lieb WR. How does xenon produce anaesthesia? *Nature*. 1998;396(6709):324. PMID: 9845069 https://doi.org/10.1038/24525
23. Huang H, Liu S, Kornberg TB. Glutamate signaling at cytoneme synapses. Science. 2019;363(6430):948–955. PMID: 30819957 https://doi.org/10.1126/science.aat5053
24. Kaneko Y, Tuazon JP, Ji X, Borlongan CV. Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide Elicits Neuroprotection Against Acute Ischemic Neuronal Cell Death Associated with NMDA Receptors. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(4):1982–1995. PMID: 30513524 https://doi.org/10.1159/000495722
25. Liu Y, Li AQ, Ma W, Gao YB, Deng LQ, Zhang C, et al. Limb Remote Ischemic Preconditioning Reduces Repeated Ketamine Exposure-Induced Adverse Effects in the Developing Brain of Rats. *J Mol Neurosci*. 2019;68(1):58–65. PMID: 30847723 https://doi.org/10.1007/s12031-019-01282-3
26. Andreasen SR, Lundbye CJ, Christensen TB, Thielsen KD, Schmitt-John T, Holm MM. Excitatory-inhibitory imbalance in the brain of the wobbler mouse model of amyotrophic lateral sclerosis substantiated by riluzole and diazepam. *Neurosci Lett*. 2017;658:85–90. PMID: 28823891 https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.08.033
27. Ladak AA, Enam SA, Ibrahim MT. A Review of the Molecular Mechanisms of Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg*. 2019;131:126–132. PMID: 31301445 https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.07.039
28. Kim UJ, Lee BH, Lee KH. Neuroprotective effects of a protein tyrosine phosphatase inhibitor against hippocampal excitotoxic injury. *Brain Res*. 2019;1719:133–139. PMID: 31128098 https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.05.027
29. Bakthavachalam P, Shanmugam PST. Mitochondrial dysfunction – Silent killer in cerebral ischemia. *J Neurol Sci*. 2017;375:417–423. PMID: 28320180 https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.02.043
30. Laitio R, Maze M. Xenon limits brain damage following cardiac arrest. *ICU Management & Practice*. 2018;18(3):192–195.
31. Wang H, Kumar A, Lamont RJ, Scott DA. GSK3β and the control of infectious bacterial diseases. Trends Microbiol. 2014;22(4):208–217. PMID: 24618402 https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.01.009
32. Ko R, Lee SY. Glycogen synthase kinase 3β in Toll-like receptor signaling. BMB Rep. 2016;49(6):305–310. PMID: 26996345 https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.6.059
33. Parker PJ, Caudwell FB, Cohen P. Glycogen synthase from rabbit skeletal muscle; effect of insulin on the state of phosphorylation of the seven phosphoserine residues in vivo. *Eur J Biochem*. 1983;130(1):227–34. PMID: 6402364 https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1983.tb07140.x
34. Juhaszova M, Zorov DB, Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3β in cardioprotection. *Circ Res*. 2009;104(11):1240–1252. PMID: 19498210 https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.19799650
35. Zuo Z. Are volatile anesthetics neuroprotective or neurotoxic? *Med Gas Res*. 2012;2(1):10. PMID: 22510328 https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-10
36. Bantel C, Maze M, Trapp S. Neuronal preconditioning by inhalational anesthetics: evidence for the role of plasmalemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology*. 2009;110(5):986-995. PMID: 19352153 https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31819dadc735

37. Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Плотников Е.Ю., Борисов К.Ю., Шайбакова В.Л., Шапошников А.А. и др. Механизмы фармакологического прекондиционирования мозга и сравнительная эффективность препаратов - ингибиторов гликоген-синтетазы-киназы-3β прямого и непрямого действия. *Общая реаниматология*. 2012;8(6):37–42. https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37 9779-2012-6-37
38. Гребенчиков О.А., Аврущенко М.Ш., Борисов К.Ю., Ильин Ю.В. Лихванцев В.В. Нейропротекторные эффекты севофлурана на модели тотальной ишемии-реперфузии. *Клиническая патофизиология*. 2014;(2):57–64.
39. Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В. Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2019;15(3):73–82. https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
40. Rojo AI, Sagarra MR, Cuadrado A. GSK-3beta down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress. *J Neurochem*. 2008;105(1):192–202. PMID: 18005231 https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05124.x
41. Jiang Y, Bao H, Ge Y, Tang W, Cheng D, Luo K, et al. Therapeutic targeting of GSK3β enhances the Nrf2 antioxidant response and confers hepatic cytoprotection in hepatitis C. Gut. 2015;64(1):168–179. PMID: 24811996 https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-30604359

REFERENCES

1. Vilensky BS, Yakhno NN. The Problem of Cerebral Stroke: Its Contemporary State. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2006;(9–10):18–23. (In Russ.)
2. Shevchenko EV, Ramazanov GR, Petrikov SS. Causes of Dizziness in Patients with Suspected Stroke. *Russian Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care*. 2018;7(3):217–221. (In Russ.) https://doi.org/10.23934/2223-9022-2018-7-3-217-221
3. Piradov MA, Krylov VV, Belkin AA, Petrikov SS. Insul'ty. In: Gel'fand BR, Zabolotskikh IB. (eds.) *Intensivnaya terapiya*. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2017.Ch.2:288–309. (In Russ.)
4. Krylov VV, Petrikov SS, Talypov AE, Puras YuV, Solodov AA, Levchenko OV, et al. Modern Principles of Surgery Severe Craniocerebral Trauma. *Russian Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care*. 2013;(4):39–47. (In Russ.)
5. Hackenberg K, Unterberg A. Schädel-Hirn-Trauma. *Nervenarzt*. 2016;87(2):203–216. PMID: 26810405. https://doi.org/10.1007/s00115-015-0051-3
6. Vella MA, Crandall ML, Patel MB. Acute Management of Traumatic Brain Injury. *Surg Clin North Am*. 2017;97(5):1015–1030. PMID: 28958355. https://doi.org/10.1016/j.suc.2017.06.003
7. Shabanov AK, Kartavenko VI, Petrikov SS, Marutyan ZG, Rozumny PA, Chernenkaya TV, et al. Evere Multisystem Craniocerebral Injury: Features of the Clinical Course and Outcomes. *Russian Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care*. 2017;6(4):324–330. (In Russ.) https://doi.org/10.23934/2223-9022-2017-6-4-324-330
8. Janowitz T, Menon DK. Exploring new routes for neuroprotective drug development in traumatic brain injury. *Sci Transl Med*. 2010;2(27):27rv1. PMID: 20393189. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000330
9. Ostrova IV, Grebenchikov OA, Golubeva NV. Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. *General Reanimatology*. 2019;15(3):73–82. (In Russ.) https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
10. Campos-Pires R, Koziakova M, Yonis A, Pau A, Macdonald W, Harris K, et al. Xenon Protects against Blast-Induced Traumatic Brain Injury in an In Vitro Model. *J Neurotrauma*. 2018;35(8):1037–1044. PMID: 29285980. https://doi.org/10.1089/neu.2017.5360
11. Lavaur J, Le Nogue D, Lemaire M, Pype J, Farjot G, Hirsch EC, et al. The noble gas xenon provides protection and trophic stimulation to midbrain dopamine neurons. *J Neurochem*. 2017;142(1):14–28. PMID: 28398653. https://doi.org/10.1111/jnc.14041
12. Miao YF, Peng T, Moody MR, Klegerman ME, Aronowski J, Grotta J, et al. Delivery of xenon-containing echogenic liposomes inhibits early brain injury following subarachnoid hemorrhage. *Sci Rep*. 2018;8(1):450. PMID: 29323183. https://doi.org/10.1038/s41598-017-18914-6
13. Yang YW, Wang YL, Lu JK, Klegerman ME, Aronowski J, Grotta J, et al. Delayed xenon post-conditioning mitigates spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits by regulating microglial activation and inflammatory factors. *Neural Regen Res*. 2018;13(3):510–517. PMID: 29623938. https://doi.org/10.4103/1673-5374.228757
14. Veldeman M, Coburn M, Rossaint R, Clusmann H, Nolte K, Kremer B, et al. Xenon Reduces Neuronal Hippocampal Damage and Alters the Pattern of Microglial Activation after Experimental Subarachnoid Hemorrhage: A Randomized Controlled Animal Trial. *Front Neurol*. 2017;8:511. PMID: 29021779. https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00511
15. Grinvud N, Ernsho A. *Khimiya elementov*. In 2 vol., 3rd ed. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy Publ.; 2015. Vol. 2:233. (In Russ.)
16. Lawrence JH, Loomis WF, Tobias CA, Turpin FH. Preliminary observations on the narcotic effect of xenon with a review of values for solubilities of gases in water and oils. *J Physiol*. 1946;105(3):197–204. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1946.sp004164
17. Cullen SC, Gross EG. The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton. *Science*. 1951;113(2942):580–582. PMID: 14834873. https://doi.org/10.1126/science.113.2942.580
18. Burov NE, Potapov VN, Makeev GN. *Ksenon v anesteziologii*. Moscow: Puls Publ.; 2000. (In Russ.)
19. Wilhelm S, Ma D, Maze M, Franks NP. Effects of xenon on in vitro and in vivo models of neuronal injury. *Anesthesiology*. 2002;96(6):1485–1491. PMID: 12170064. https://doi.org/10.1097/00000542-200206000-00031
20. Homi HM, Yokoo N, Ma D, Warner DS, Franks NP, Maze M, et al. The neuroprotective effect of xenon administration during transient middle cerebral artery occlusion in mice. *Anesthesiology*. 2003;99(4):876–881. PMID: 14508320. https://doi.org/10.1097/00000542-200310000-00020
21. Banks P, Franks NP, Dickinson R. Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor mediates xenon neuroprotection against hypoxia-ischemia. *Anesthesiology*. 2010;112(3):614–622. PMID: 20124979. https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181cea398
22. Franks NP, Dickinson R, de Sousa SL, Hall AS, Lieb WR. How does xenon produce anaesthesia? *Nature*. 1998;396(6709):324. PMID: 9845069. https://doi.org/10.1038/24525
23. Huang H, Liu S, Kornberg TB. Glutamate signaling at cytoneme synapses. *Science*. 2019;363(6430):948–955. PMID: 30819957. https://doi.org/10.1126/science.aat5053
24. Kaneko Y, Tuazon JP, Ji X, Borlongan CV. Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide Elicits Neuroprotection Against Acute Ischemic Neuronal Cell Death Associated with NMDA Receptors. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(4):1982–1995. PMID: 30513524. https://doi.org/10.1159/000495722
25. Liu Y, Li AQ, Ma W, Gao YB, Deng LQ, Zhang C, et al. Limb Remote Ischemic Preconditioning Reduces Repeated Ketamine Exposure-Induced Adverse Effects in the Developing Brain of Rats. *J Mol Neurosci*. 2019;68(1):58–65. PMID: 30847723. https://doi.org/10.1007/s12031-019-01282-3
26. Andreasen SR, Lundbye CJ, Christensen TB, Thielsen KD, Schmitt-John T, Holm MM. Excitatory-inhibitory imbalance in the brain of the wobbler mouse model of amyotrophic lateral sclerosis substantiated by riluzole and diazepam. *Neurosci Lett*. 2017;658:85–90. PMID: 28823891. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.08.033
27. Ladak AA, Enam SA, Ibrahim MT. A Review of the Molecular Mechanisms of Traumatic Brain Injury. *World Neurosurg*. 2019;131:126–132. PMID: 31301445. https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.07.039
28. Kim UJ, Lee BH, Lee KH. Neuroprotective effects of a protein tyrosine phosphatase inhibitor against hippocampal excitotoxic injury. *Brain Res*. 2019;1719:133–139. PMID: 31128098. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.05.027
29. Bakthavachalam P, Shanmugam PST. Mitochondrial dysfunction – Silent killer in cerebral ischemia. *J Neurol Sci*. 2017;375:417–423. PMID: 28320180. https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.02.043
30. Laitio R, Maze M. Xenon limits brain damage following cardiac arrest. *ICU Management & Practice*. 2018;8(3):192–195.
31. Wang H, Kumar A, Lamont RJ, Scott DA. GSK3β and the control of infectious bacterial diseases. *Trends Microbiol*. 2014;22(4):208–217. PMID: 24618402. https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.01.009
32. Ko R, Lee SY. Glycogen synthase kinase 3β in Toll-like receptor signaling. *BMB Rep*. 2016;49(6):305–310. PMID: 26996345. https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.6.059
33. Parker PJ, Caudwell FB, Cohen P. Glycogen synthase from rabbit skeletal muscle; effect of insulin on the state of phosphorylation of the seven phosphoserine residues in vivo. *Eur J Biochem*. 1983;130(1):227–234. PMID: 6402364. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1983.tb07140.x
34. Juhaszova M, Zorov DB, Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3β in cardioprotection. *Circ Res*. 2009;104(11):1240–1252. PMID: 19498210. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.19799650
35. Zuo Z. Are volatile anesthetics neuroprotective or neurotoxic? *Med Gas Res*. 2012;2(1):10. PMID: 22510328. https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-10
36. Bantel C, Maze M, Trapp S. Neuronal preconditioning by inhalational anesthetics: evidence for the role of plasmalemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology*. 2009;110(5):986–995. PMID: 19352153. https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31819dadc735
37. Likhvantsev VV, Grebenchikov OA, Borisov KYu, Shaibakova VL, Shaposhnikov AA, Cherpakov RA, et al. The Mechanisms of Pharmacological Preconditioning of the Brain and the Comparative Efficacy of the Drugs — Direct- and Indirect-Acting Glycogen Synthase Kinase-3β Inhibitors: Experimental Study. *General Reanimatology*. 2012;8(6):37. (In Russ.) https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-37
38. Grebenchikov OA, Avrushchenko MSh, Borisov KYu, Il''in YuV, Likhvantsev VV. Neyroprotektornye Effekty Sevoflurana na Modeli Total''noy Ishemii-Reperfuzii. *Clinical Pathophysiology*. 2014;(2):57–64. (In Russ.)

39. Ostrova IV, Grebenchikov OA, Golubeva NV. Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. *General Reanimatology*. 2019;15(3):73–82. (In Russ.) https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
40. Rojo AI, Sagarra MR,Cuadrado A. GSK-3beta down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress. *J Neurochem*. 2008;105(1):192–202. PMID: 18005231. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05124.x
41. Jiang Y, Bao H, Ge Y, Tang W, Cheng D, Luo K, et al. Therapeutic targeting of GSK3β enhances the Nrf2 antioxidant response and confers hepatic cytoprotection in hepatitis C. *Gut*. 2015;64(1):168–179. PMID: 24811996. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-30604359

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кузовлев Артем Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора — руководитель НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии ИВДПО ФНКЦ РР;
https://orcid.org/0000-0002-5930-0118, artem_kuzovlev@mail.ru;
15%: концепция статьи, редактирование первичного материала, окончательное утверждение текста

Шпичко Андрей Иванович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории органопротекции при критических состояниях ФНКЦ РР;
https://orcid.org/0000-0002-4652-3259, shpichko.a@yandex.ru;
15%: редактирование первичного материала, окончательное утверждение текста, подготовка текста к печати

Рыжков Иван Александрович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальных исследований ФНКЦ РР;
https://orcid.org/0000-0002-0631-5666, riamed21@gmail.com;
15%: сбор материала, редактирование текста, подготовка текста к печати

Гребенчиков Олег Александрович — доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории органопротекции при критических состояниях ФНКЦ РР;
http://orcid.org/0000-0001-9045-6017, oleg.grebenchikov@yandex.ru;
15%: редактирование первичного материала, концепция статьи, окончательное утверждение текста

Шабанов Аслан Курбанович — доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии при критических состояниях, заместитель главного врача по анестезиологии и реаниматологии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
https://orcid.org/0000-0002-3417-2682, aslan_s@mail.ru;
10%: редактирование первичного материала

Хусаинов Шамиль Жафярович — врач анестезиолог-реаниматолог ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», аспирант ФНКЦ РР;
https://orcid.org/0000-0002-3177-8929, shamilkhusainov1989@gmail.com;
10%: сбор материала, редактирование текста

Цоколаева Зоя Ивановна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальных исследований ФНКЦ РР;
https://orcid.org/0000-0003-2441-6062, tsokolaevazoya@mail.ru;
10%: редактирование первичного материала, подготовка текста к печати

Лобанов Александр Владимирович — старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение ФГБНУ «НИИОПП»;
http://orcid.org/0000-0002-5159-3227, lobanov-av@yandex.ru;
10%: оценка пригодности первичного материала для решения задач исследования и его сбор

Received on 22.05.2020
Review completed on 08.07.2020
Accepted on 29.09.2020

Поступила в редакцию 22.05.2020
Рецензирование завершено 08.07.2020
Принята к печати 29.09.2020

Effect of Xenon on the Phosphorylation of Glycogen Synthase Kinase 3β and Antioxidant Enzymes in Rat Brain

A.N. Kuzovlev[1], A.I. Shpichko[1]*, I.A. Ryzhkov[1], O.A. Grebenchikov[1], A.K. Shabanov[1, 2], Sh.Zh. Khusainov[1, 2], Z.I. Tsokolaeva[1], A.V. Lobanov[3]

Organoprotection laboratory in critical conditions
[1] Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation
25 b. 2 Petrovka St., Moscow 107031, Russian Federation
[2] N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department
3 B. Sukharevskaya Sq., Moscow 129090, Russian Federation
[3] Research Institute of General Pathology and Pathophysiology
8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation

*** Contacts:** Andrey I. Shpichko, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Organoprotection in Critical Conditions, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation. Email: shpichko.a@yandex.ru

RELEVANCE The increase in the number of severe brain injuries due to stroke and traumatic brain injury determines the need to study and develop effective strategies for neuroprotection. The article highlights new mechanisms of the neuroprotective action of the inhalation anesthetic xenon based on the data of our own experimental studies.

AIM OF STUDY To assess the effect of anesthesia with xenon at a concentration of 0.5 MAC (minimum alveolar concentration) on the phosphorylation of glycogen synthase kinase 3β (GSK-3β) and the content of antioxidant defense enzymes in the rat brain.

MATERIAL AND METHODS The effect of inhalation anesthesia with xenon on the phosphorylation of the GSK-3β enzyme in comparison with lithium chloride, as well as on the content of heme oxygenase, catalase, and Mn-superoxide dismutase in rat brain homogenates was studied by immunoblotting.

RESULTS The use of xenon at a concentration of 0.5 MAA causes an almost twofold increase in the content of the phosphorylated form of the GSK-3β enzyme in comparison with the control ($p<0.05$) and significantly increases the pool of antioxidant defense enzymes: heme oxygenase by 50% ($p <0.05$) and Mn-superoxide dismutase by 60% ($p<0.05$).

CONCLUSION The conducted experimental study revealed new molecular mechanisms of action of the inhalation anesthetic xenon. The effect of xenon on the pool of enzymes involved in the protection of the brain from oxidative distress was found. The data obtained indicate the prospects for using xenon and require further research in this direction.

The use of xenon at a concentration of 50 vol.% (0.5 MAA) for 30 minutes does not affect the content of the glycogen synthase-3β enzyme, at the same time causing an almost twofold increase in its phosphorylated form, the glycogen synthase-3β enzyme, and is accompanied by a significant increase the content of heme oxygenase, Mn-superoxide dismutase and a slight increase in the content of catalase in rat brain homogenates. Thus, the results of the study suggest that one of the possible mechanisms of the neuroprotective effect of xenon is the phosphorylation of glycogen synthase-3β, which prevents the opening of the mitochondrial pore, inhibiting the death of mitochondria-mediated apoptosis of neurons and increasing the level of antioxidant protection in them.

Keywords: xenon, neuroprotection, glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β), heme oxygenase, Mn-superoxide dismutase

For citation Kuzovlev AN, Shpichko AI, Ryzhkov IA, Grebenchikov OA, Shabanov AK, Khusainov ShZh, et al. Effect of Xenon on the Phosphorylation of Glycogen Synthase Kinase 3β and Antioxidant Enzymes in Rat Brain. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care.* 2020;9(4):564–572. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-4-564-572 (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship The study had no sponsorship

Affiliations

Artem N. Kuzovlev	Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director — Head of the Research Institute of General Reanimatology. V.A. Negovsky Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation, Head of the Department of Anesthesiology and Reanimatology, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; https://orcid.org/0000-0002-5930-0118, artem_kuzovlev@mail.ru; 15%, the concept of the article, editing of the primary material, the final approval of the text
Andrey I. Shpichko	Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Organoprotection in Critical Conditions, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; https://orcid.org/0000-0002-4652-3259, shpichko.a@yandex.ru; 15%, editing of the primary material, final approval of the text, preparation of the text for printing
Ivan A. Ryzhkov	Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Research, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; https://orcid.org/0000-0002-0631-5666, riamed21@gmail.com; 15%, collecting material, editing text, preparing text for printing
Oleg A. Grebenchikov	Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Organoprotection in Critical Conditions, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; http://orcid.org/0000-0001-9045-6017, oleg.grebenchikov@yandex.ru; 15%, editing of the primary material, concept of the article, final approval of the text
Aslan K. Shabanov	Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology in Critical Conditions, Deputy Chief Physician for Anesthesiology and Reanimatology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0002-3417-2682, aslan_s@mail.ru; 10%, editing primary material
Shamil Z. Khusainov	Doctor Anesthesiologist-resuscitator, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, post-graduate student of Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; https://orcid.org/0000-0002-3177-8929, shamilkhusainov1989@gmail.com; 10%, collecting material, editing text
Zoya I. Tsokolaeva	Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Experimental Research, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation; https://orcid.org/0000-0003-2441-6062, tsokolaevazoya@mail.ru; 10%, editing primary material, preparing text for printing
Alexander V. Lobanov	Senior Researcher, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; http://orcid.org/0000-0002-5159-3227, lobanov-av@yandex.ru; 10%, collection of primary material