

Паликов Виктор Анатольевич

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ДЫХАТЕЛЬНОЙ КИСЛОРОДНО-ГЕЛИЕВОЙ СМЕСИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ
ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГАЗОВОЙ ЭМБОЛИИ:
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

1.5.5. – Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный

руководитель: доктор биологических наук, профессор, **Мурашев Аркадий Николаевич**

Официальные оппоненты: **Гребенчиков Олег Александрович**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией органопротекции при критических состояниях Научно-исследовательского института общей реаниматологии имени В.А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии

Атякшин Дмитрий Андреевич, доктор медицинских наук, директор научно-образовательного ресурсного центра «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « ____ » 2026 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.023.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук по адресу: 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук и на сайте: <http://www.imbp.ru:16080/WebPages/win1251/ScienceN/DisserSov/Palikov2025/Palikov.html>

Автореферат разослан « ____ » 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Светлана Викторовна Поддубко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Травмы, приводящие к нарушению целостности гемато-альвеолярного барьера, являются основной причиной воздушной эмболии (ВЭ) [Yang et al., 2019]. В конце XX – начале XXI века взрывная травма стала доминирующим видом военной травмы. Исследования, проведенные сотрудниками ВОЗ, показывают, что 79% травм, связанных с боевыми действиями, вызваны взрывными волнами [Meng et al., 2022]. При этом ВЭ является наиболее распространенной причиной гибели после данного вида травм [Bukowski et al., 2023]. Повреждение легочной ткани и нарушение барьерной целостности сосудов может наблюдаться и при механических травмах в области грудной клетки [Mitchell et al., 2022; Gomez et al., 2023].

Ятрогенная воздушная эмболия встречается относительно редко, но связана со значительной инвалидацией и смертностью. Операции на сердце, трансплантация органов, эндоскопия, гемодиализ, биопсия тканей – эти и некоторые другие медицинские манипуляции могут привести к осложнениям в виде ВЭ [Коломенцев и др., 2017; Brown et al., 2023].

Базовое лечение ВЭ включает в себя гипербарическую оксигенацию (ГБО). ГБО уменьшает объем газов, находящихся в крови, а также увеличивает доставку кислорода ишемизированным тканям через плазму крови [Кулешов и др., 2016; Marsh et al., 2023; Bousbaa et al., 2024]. Альтернативным и распространенным лечением ВЭ, как венозной, так и артериальной, является дыхание 100% кислородом в нормобарических условиях [Сугак и др., 2019]. Несмотря на изученный механизм действия и доказанную эффективность у вышеуказанных терапий есть недостатки и ограничения. Проведение ГБО требует транспортировки больного к барокамере, что увеличивает время до оказания помощи [Миннурлин, 2014]. Скорость диффузии кислорода при нормобарии относительно низкая, а проведение оксигенотерапии ограничено по времени.

Использование дыхательных газовых смесей (ДГС) при нормобарических условиях позволяет избежать проблем, которые наблюдаются в перечисленных ранее методах. Известно, что использование газовых смесей на фоне ВЭ влияет на показатели кровообращения и парциального давления газов внутри сосудов [Verstappen et al., 1977; Sergysels et al., 1978].

Одной из перспективных газовых смесей для экстренной терапии ВЭ является гипероксическая кислородно-гелиевая смесь (КГС). Гелий – инертный газ, обладающий уникальными физическими и химическими свойствами, способными увеличить диффузионную способность газов, что в свою очередь повышает сатурацию крови кислородом [Дудкина, 2022; Хадарцев и др., 2020].

Анализ литературы продемонстрировал, что применение КГС при гипербарических и нормобарических условиях на фоне декомпрессионной болезни вызывает последовательное

сокращение пузырьков воздуха в отдельных тканях [Hyldegaard et al, 2011]. КГС обладает важным клеточным защитным действием в организме [Агафонов и др., 2024; Oei G., 2010]. Было показано, что КГС уменьшает объем инфаркта в экспериментальной модели очаговой церебральной ишемии-реперфузии на животных [Pan Yi et al, 2007] и уменьшает повреждения клеток на модели черепно-мозговой травмы *in vitro* [Coburn et al., 2008].

Попадание газовых эмболов в артерии может вызвать ишемизацию органов и тканей. Цереброваскулярные окклюзии – наиболее часто встречаемое осложнение, вызванное ВЭ [Horrocks, 2001]. Головной мозг потребляет до 20% кислорода в крови и не обладает, в отличие от мышечной ткани, запасом кислорода [Малыгина, 2019]. Церебральная ишемия приводит к незамедлительным клиническим проявлениям [Кандыба, 2016; Дайнеко и др., 2014; Черных и др., 2022]. В связи с чем головной мозг является основной и в то же время идеальной мишенью для изучения физиологических особенностей артериальной воздушной эмболии (АВЭ) и методов экстренной терапии данной патологии. Изучение механизмов, причин, клинических проявлений и альтернативных методов экстренной терапии ВЭ стало приоритетной задачей данной работы.

Цель исследования

Изучение физиологических реакций бодрствующего организма на ишемию головного мозга, вызванную инфузией воздуха во внутреннюю сонную артерию, а также оценка эффективности применения дыхательных газовых смесей в нормобарических условиях для коррекции подобных ишемических состояний.

Задачи исследования

1. Разработать релевантную экспериментальную модель ишемии головного мозга на бодрствующих крысах, этиологическим фактором которой является ВЭ, и провести оценку ключевых функциональных и физиологических изменений, связанных с этим патологическим состоянием;
2. Изучить экстренную терапию ишемии головного мозга, вызванную артериальной воздушной эмболией (АВЭ), в нормобарических условиях с помощью ингаляционного сеанса кислородом у бодрствующих крыс;
3. Изучить экспериментальный метод терапии ишемии головного мозга, вызванной АВЭ, в нормобарических условиях с помощью гипероксической КГС у бодрствующих крыс;
4. Установить оптимальную температуру дыхательной гипероксической КГС для ингаляционного сеанса, применяемого в качестве экспериментального метода терапии ишемии головного мозга.

Научная новизна

В рамках данной работы впервые разработана и описана экспериментальная модель инсульта на бодрствующих крысах при помощи инфузии воздуха во внутреннюю сонную артерию. Клиническая картина максимально приближена к реальной человеческой симптоматике, поскольку крысы находятся в сознании и патологический процесс протекает без вмешательства анестезирующих веществ.

Впервые экспериментально доказано положительное влияние ингаляционных сеансов КГС на течение церебральной ишемии, вызванной ВЭ, используемой в качестве экстренной терапии в нормобарических условиях. Эффект от КГС сопоставим с гипербарическим воздействием, которое является золотым стандартом в терапии внутрисосудистой газовой эмболии различного генеза.

Впервые установлены температурные и временные режимы ингаляционных сеансов. Определен интервал безопасного применения КГС после воздушной эмболизации, при выходе за пределы которого происходит геморрагическая трансформация очага ишемического инфаркта вследствие некротических изменений сосудистой стенки в зоне инфаркта.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработанная модель ишемии головного мозга, этиологическим фактором которой является ВЭ, позволяет в дальнейшем модернизировать принципы и схемы лечебных мероприятий. Физиологические особенности, а именно, признаки психоза, вегетативной дисфункции, функциональной недостаточности, продемонстрированные в данной работе, могут стать частью дифференциальной диагностики цереброваскулярной газовой эмболии при соответствующем анамнезе и должны учитываться при симптоматической терапии. Показано положительное влияние гипероксической дыхательной КГС на исход ЦАГЭ. КГС может стать основной газовой смесью, применяемой для экстренной терапии ВЭ при нормобарических условиях. По результатам работы зарегистрирован патент № 2826093 «Способ лечения артериальной воздушной эмболии».

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием современных методов исследования, сообразных поставленной цели и задачам, применением уместных способов статистического анализа полученных данных. Исследование выполнено с одобрения и под контролем биоэтической комиссии филиала ГНЦ ИБХ РАН. Каждая экспериментальная группа животных, за исключением групп для отработки модели, включала в себя не менее 8 животных для проведения статистической обработки полученных результатов. Все исследования были выполнены с участием разных контрольных групп, соответствующих задачам исследования. Оборудование, используемое при изучении локомоторной активности,

спирометрии, артериального давления, пульса, температуры тела, координации, является специализированным для проведения доклинических исследований. Все манипуляции на крысах были выполнены согласно стандартным операционным процедурам лаборатории биологических испытаний филиала ГНЦ ИБХ РАН, имеющей международную и российскую аккредитацию GLP.

Положения, выносимые на защиту

1. Экспериментальное моделирование ишемии головного мозга на бодрствующих крысах при помощи инфузии воздуха во внутреннюю сонную артерию, позволяет изучать физиологические параметры, свидетельствующие о нарушениях мозгового кровообращения;
2. Ингаляционный сеанс подогретой гипероксической КГС в отличие от медицинского кислорода, вызывает эффект, сравнимый с гипербарической терапией и устраняет ишемию ткани головного мозга, связанную с газовой эмболией;
3. Наличие положительного эффекта КГС напрямую зависит от температуры и периода от начала ишемии до ингаляционного сеанса.

Личное участие автора

Личный вклад диссертанта заключается в формировании научной концепции исследования, формулировке цели и задач данной работы, планировании и подготовке экспериментов. Такие методики как моделирование цереброваскулярной эмболии, ингаляционное введение, изучение физиологических особенностей, проведение функциональных тестов, некропсия, анализ площади инфаркта головного мозга, гистологический анализ выполнялись непосредственно автором от сбора первичных данных до обработки полученных результатов. Диссертант принимал активное участие в разработке отечественного лабораторного ингаляционного комплекса для лабораторных грызунов, который отвечает международным требованиям, указанным в организации экономического сотрудничества и развития (англ. OECD). Статистический анализ полученных данных, интерпретация результатов, подготовка текста диссертационной работы, а также формулировка заключения и выводов проведены непосредственно диссертантом.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 6 статей в журналах из перечня ВАК РФ и баз данных RSCI/Scopus/Web of Science, 1 патент и 1 тезис доклада.

Апробация результатов

Основные результаты и положения диссертационной работы доложены и обсуждены на научных конференциях: доклад на 27-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2024); XX ежегодная научно-практическая конференция «Биомедицина и биомоделирование» (Светлые горы, 2024); научно-

практическая конференция «Трансляционная медицина будущего: использование животных-биомоделей и генетических технологий в создании новых подходов и технологий здоровьесбережения населения» (Пущино, 2024); третий Саммит разработчиков лекарственных препаратов «Сириус. Биотех» (Сириус, 2025).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа построена по классическому принципу и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, методические вопросы исследований и характеристика экспериментального материала, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 рисунками, содержит 7 таблиц. В список литературы включено 224 источников, из них 77 отечественных и 147 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

В исследованиях были использованы 169 молодых половозрелых самцов крыс аутбредного стока SD (Sprague Dawley), имеющие SPF-статус (животные, свободные от определенных патогенов) с массой не менее 300 г и не более 350 г. Все процедуры с животными в исследовании были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией филиала ГНЦ ИБХ РАН на предмет соответствия регулирующим документам. Номер протокола комиссии: 922/22 (дата утверждения 27.12.2022). Эксперименты на животных были проведены на базе центра биологических испытаний ИБХ РАН.

Моделирование внутрисосудистой воздушной эмболии

Моделирование ВЭ проводили при помощи подачи воздуха через катетер, имплантированный во внутреннюю сонную артерию за сутки до эксперимента. Катетеризацию выполняли под наркозом: на выделенном участке наружной сонной артерии делали разрез, в который вводили гепаринизированный катетер. Его продвигали в общий ствол артерии, фиксировали и выводили на холку животного, после чего рану ушивали. Спустя 24 часа к катетеру подключали шприц, помещенный к инфузомату. Это обеспечивало постоянную скорость и точный контроль объема подаваемого воздуха. Манипуляцию проводили на бодрствующих крысах, помещённых в домики-фиксаторы.

Ингаляционное применение газовых смесей

Введение газовых смесей проводили ингаляционно с помощью «Лабораторного ингаляционного комплекса» (ЗАО «СКБ ЭО при ИМБП РАН»). Тестируемая ДГС из баллона (давление до 155 кгс/см²) через систему вентиляй и коллектор поступала в регулятор давления,

где давление снижалось до 1 кгс/см², а затем на поплавковые ротаметры. С помощью вентиляй тонкой настройки на ротаметрах устанавливали необходимый расход смеси в зависимости от числа животных и целевой температуры. Далее газовая смесь подавалась в экспозиционный модуль, где нагревалась до заданной температуры и через рассеиватель равномерно подавалась в отверстия, к которым были подсоединенны домики-фиксаторы с крысами. Поддержание установленной температуры вдыхаемой газовой смеси происходило автоматически путем подачи и отключения питания на нагреватели в зависимости от данных, поступающих от датчиков температуры.

Тестируемые газовые смеси

В исследованиях использовалась КГС под названием «Геофарм-3», которая выпускается компанией ЗАО «СКБ при ИМБП РАН», Россия. Газовая смесь «Геофарм-3» состоит из 68% гелия и 32% кислорода и производится путем смешения кислорода медицинского (чистотой не менее 99,5%) по ГОСТ 5583 -78 или РУ (ЛП 000637, ЛП 001483 и т.п.) и гелия (чистотой не менее 99,995%) по ТУ 0271-135-31323949-2005 (с изм.1) или ТУ 0271 - 001 - 45905715 - 02 (с изм. 1,2). В качестве основного объекта сравнения был использован медицинский кислород производства ООО «Ковровский газовый завод» (аналитический паспорт № 0280522/30, серия 0220523).

Барокамера

Для подтверждения валидности и релевантности модели артериальной воздушной эмболии был применен классический подход терапии с использованием гипербарии. Животных помещали в экспериментальную барокамеру «Мышка 2», сконструированную на базе ЗАО «СКБ при ИМБП РАН». Камера сделана для подачи различных газовых смесей с возможностью поддержания давления 100 метров вод. ст. Объем камеры 22,6 литра позволяет одновременно размещать в камере до 6 крыс. Камера оснащена датчиками температуры и влажности.

Функциональные тесты

Регистрацию артериального давления и пульса проводили не инвазивным методом с использованием компьютеризированной системы «PowerLab 8/35» (ADInstruments Pty Ltd., Австралия). Локомоторную активность регистрировали с помощью компьютеризированной системы Multiple Activity Cage 47420 с программным обеспечением CUB 2005 v.3.0.15 (Ugo Basile, Италия). Оценка параметров дыхания производилась с помощью компьютеризированной системы «PowerLab 8/35» (ADInstruments Pty Ltd., Австралия) с использованием блока спирометра и дыхательной головки FE141 Spirometer. Для измерения ректальной температуры использовали поверенный медицинский цифровой термометр WT-03 Standart (B.Well) с диапазоном измерения от 32 °C до 42 °C. Оценку координации и моторной функции проводили в teste «RotaRod» на установке Rotamex-5 (Columbus Instruments, США). Измерение силы хвата

конечностей было выполнено с использованием прибора Grip Strength (Columbus Instruments, США). Сила растяжения динамометра в кг (Chatillon DFIS-10, AMETEK, Inc / Columbus Instruments) использовалась для регистрации мышечной силы передних конечностей. Беговую способность животных оценивали, исследуя максимально достигнутую скорость на движущейся беговой дорожке «Exer 3/6» (Columbus Instruments, США).

Визуализация поврежденной области мозга

Животные были подвергнуты эвтаназии путем анестезии с последующим терминальным взятием крови из каудальной полой вены. Мозг извлекали, нарезали на фронтальные срезы толщиной 2 мм. Срезы помещали в 1% раствор ТТХ. Окраску проводили при 37 °С в течение 10-12 минут. На окрашенных срезах оценивали наличие или отсутствие очагов поражения головного мозга с помощью фотoreегистрации. Затем из этих срезов были изготовлены гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью камеры Axiocam 305 color (Carl Zeiss, Германия).

Статистический анализ данных

Для всех количественных данных была применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение и стандартное отклонение, которые представлены в таблицах или рисунках. Данные функциональных тестирований были проанализированы с помощью параметрического однофакторного анализа (ANOVA) с тестом Duncan или LSD и Repeated Measures ANOVA. Данные осмотра головного мозга при некропсии оценивали с помощью точного критерия Фишера. Статистический анализ был проведен программой STATISTICA 7.1. Различия определяли при $p < 0,05$.

Серии экспериментов

Проведено 6 самостоятельных экспериментов с использованием 169 самцов крыс SD (Таблица 1).

Таблица 1. Перечень проведенных экспериментов

1. Поиск режима инфузии воздуха во внутреннюю сонную артерию для моделирования АВЭ головного мозга бодрствующих крыс	7 групп по 3 животных
2. Изучение физиологических особенностей и гистологических изменений головного мозга в экспериментальной модели АВЭ у бодрствующих крыс	28 животных
3. Изучение влияния гипербарической терапии и оксигенотерапии на физиологические параметры и очаг поражения головного мозга при АВЭ у крыс	3 группы по 8 животных
4. Изучение влияния подогретой дыхательной газовой смеси «Геофарм-3» на физиологические параметры и очаг поражения головного мозга при АВЭ	3 группы по 8 животных
5. Изучение влияния температуры ингаляционной газовой смеси «Геофарм-3» на ее эффективность при экстренной терапии АВЭ	4 группы по 8 животных
6. Определение оптимального и безопасного периода времени от момента возникновения АВЭ до применения КГС	5 групп по 8 животных

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск режима инфузии воздуха во внутреннюю сонную артерию

На начальном этапе экспериментов использовалось болюсное введение воздуха общим объемом 3 мл/кг, при котором воздух вводился порциями по 100 мкл каждые 30 секунд. Однако такой режим введения приводил к гибели животных в первые часы наблюдения. Постепенное уменьшение общего объема и скорости введения воздуха позволило увеличить время до летального исхода, но даже при этих условиях болюсное введение не соответствовало требованиям экспериментальной модели инсульта, которую мы стремились создать (Таблица 2). Для решения этой проблемы был применен автоматический инфузомат, который обеспечил медленную и контролируемую подачу воздуха объемом 100 мкл во внутреннюю сонную артерию. Эксперименты показали, что инфузия воздуха со скоростью более 10 мкл/мин вызывает обширный инсульт, затрагивающий оба полушария головного мозга.

Таблица 2. Результаты опытов по подбору объема и скорости вводимого воздуха

Группа	Общий объем	Скорость введения воздуха, мкл/мин	Срок гибели после введения воздуха
<i>Болюсное введение через шприц</i>			
1	3 мл/кг (по 100 мкл каждые 30 с)	—	Сразу после
2	2 мл/кг (по 100 мкл каждые 30 с)		Через 30 мин
3	1 мл/кг (по 100 мкл каждые 30 с)		Через 2 ч
4	1 мл/кг (по 100 мкл каждые 60 с)		Через 5 ч
<i>Введение при помощи инфузомата</i>			
5	100 мкл на животное	50	Через 10 ч
6		25	Через 24 ч
7		10	Через 5 сут

В результате экспериментов были определены оптимальные параметры введения воздуха: объем 100 мкл и скорость 10 мкл/мин. Эти параметры позволяют вызвать фокальную ишемию в одном полушарии головного мозга без риска гибели животных в течение 24 часов.

Физиологические и функциональные изменения при АВЭ

Исследование включало в себя 2 экспериментальные группы, состоявшие из 14 самцов крыс. Животным контрольной группы №1 была проведена хирургическая операция по катетеризации без моделирования АВЭ. На животных из группы №2 моделировали АВЭ. По 6 животных из групп были эвтаназированы спустя 24 часа после эмболии. Оставшиеся 8 животных находились под наблюдением 5 суток после АВЭ для проведения функциональных тестов, отслеживания выживаемости и проведения некропсии.

Спустя сутки после моделирования гибели животных не наблюдалось ни в одной из экспериментальных групп. Через 24 часа после АВЭ по 6 животных из каждой группы были

подвергнуты эвтаназии и некропсии (Таблица 3). Из оставшихся 8 животных в каждой группе к концу периода наблюдения в группе с АВЭ погибли все животные.

Таблица 3. Выживаемость животных после АВЭ

Временная точка наблюдения	Общее кол-во животных / выжившие	
	Контроль	АВЭ
1 сутки	14/14	14/14
2 сутки	8/8	8/5
4 сутки	8/8	8/3
5 сутки	8/8	8/0

Функциональные тесты выявили значительные нарушения координации и моторных функций у животных, подвергшихся моделированию АВЭ. Нарушения проявлялись в снижении способности выполнять сложные двигательные задачи, такие как удержание равновесия на вращающемся стержне или координация движений на беговой дорожке. Эти результаты свидетельствуют о высокой степени повреждения моторной коры, затронутой ишемическим поражением (Рисунок 1). Физиологические изменения включали ключевые параметры, такие как систолическое артериальное давление (САД), пульс, минутный объем дыхания (МОД) и температура тела. Параметры сердечно-сосудистой системы (ССС) и дыхательной системы были снижены только в первые 3 часа, но вернулись к норме спустя 24 часа после АВЭ (Рисунок 1). В отличие от типичной воспалительной реакции, сопровождающейся повышением температуры тела при моделировании инсульта, в случае АВЭ у бодрствующих животных наблюдалась гипотермия.

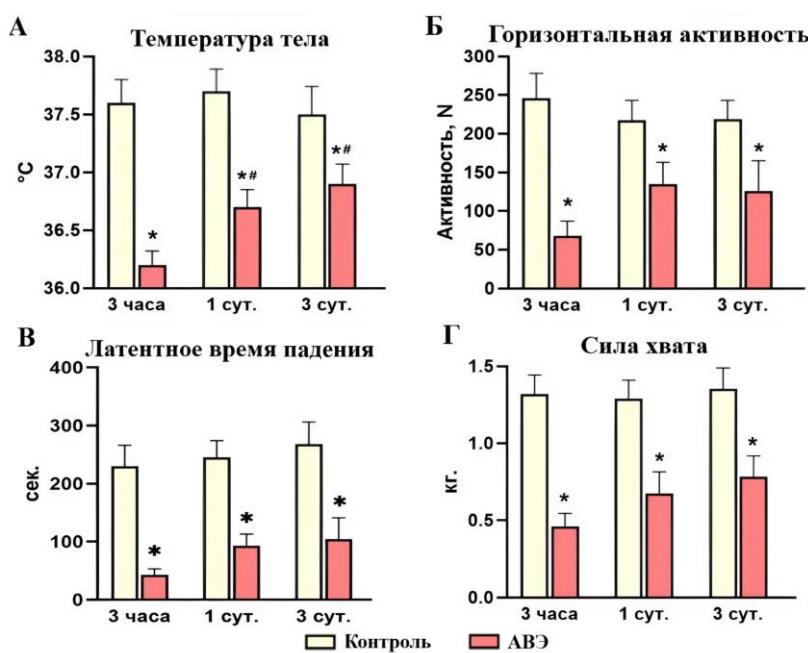


Рисунок 1. Результаты функциональных тестов. А – ректальная температура; Б – горизонтальная активность, выраженная в количестве перекрытий квадратов (N); В – время падения животных с постепенно ускоряющего стержня в тесте RotaRod; Г – сила хватания передних лап. * $p<0,05$ относительно контрольной группы, one-way ANOVA тест Duncan; # $p<0,05$ внутригрупповое сравнение относительно временной точки тестирования «3 часа» Repeated Measures ANOVA

При гистологическом исследовании спустя 24 часа после эмболизации обнаруживалась выраженная область поражения, характеризующаяся рыхлым расположением клеток с редкими ядрами в правой средней части среза (Рисунок 2). В этой зоне наблюдаются поврежденные нейроны с признаками дегенерации, а также очаговая инфильтрация нервной ткани сегментоядерными нейтрофилами, что свидетельствует о развитии воспалительного процесса в ответ на ишемическое повреждение. К пятим суткам после эмболизации в очаге ишемического некроза отмечается значительное увеличение количества макрофагов, часть из которых начинает трансформироваться в типичные «зернистые шары». Эти клетки, имеющие вид липофагов, активно поглощают продукты распада тканей, что указывает на активацию процессов ремоделирования поврежденной области.

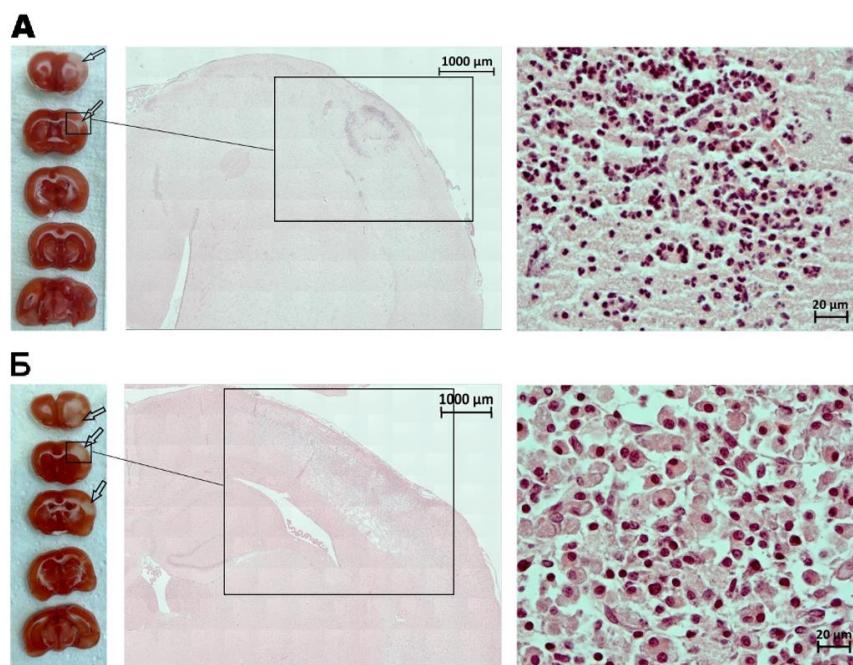


Рисунок 2. Морфологические изменения правого полушария головного мозга после инфузии воздуха во внутреннюю сонную артерию.

А – 24 часа после инфузии. Слева 5 срезов с окраской ТТХ. Посередине на рисунке представлен панорамный снимок зоны поражения головного мозга, окрашенный гематоксилином-эозином. Справа – очаговое скопление нейтрофилов в области ишемического некроза.

Б – 5 суток после инфузии. Слева 5 срезов с окраской ТТХ. Посередине на рисунке представлен панорамный снимок зоны поражения головного мозга, окрашенный гематоксилином-эозином. Справа – скопление многочисленных макрофагов на стадии трансформации в «зернистые шары»

Использование гипербарии и дыхания кислородом в качестве неотложной помощи при внутрисосудистой воздушной эмболии

Для подтверждения того, что именно газовая эмболия служит основной причиной формирования очагов ишемического поражения головного мозга в модели АВЭ, непосредственно после процедуры эмболизации одну группу животных помещали в барокамеру. В камере создавалось давление 3 ATA с использованием атмосферного воздуха. Время «на грунте» составило 30 минут.

Для прямого сравнения эффективности гипербарии с другой классической терапией была использована кислородотерапия. С этой целью другую группу крыс после эмболизации помещали в ЛИК, где им проводили непрерывную ингаляцию медицинским кислородом в течение 30 минут в условиях нормобарии. Животные из контрольной группы не подвергались дополнительным манипуляциям после введения воздушного эмбола в сосудистое русло.

Применение гипербарии сразу после моделирования АВЭ показало значительное улучшение функциональных показателей как через 3 часа, так и через 24 часа после процедуры. Через 3 часа наблюдалось увеличение горизонтальной активности, улучшение показателей МОД и САД, а также повышение температуры тела по сравнению с контрольной группой без лечения. Через 24 часа у этих животных не было выявлено отклонений в поведении, а показатели сердечно-сосудистой и дыхательной систем оставались стабильными (Рисунок 3).

У животных, получавших в качестве терапии медицинский кислород также наблюдались положительные изменения, но они были выражены преимущественно на 3-часовой отметке. Отмечалось улучшение горизонтальной активности, показателей МОД и САД, а также увеличение температуры тела по сравнению с контрольной группой без терапии. Однако к 24 часам все параметры у этих животных сравнялись с показателями контрольной группы крыс (Рисунок 3). Таким образом, кислородная терапия способствовала краткосрочному улучшению, но не обеспечивала долгосрочного эффекта, в отличие от гипербарической терапии.

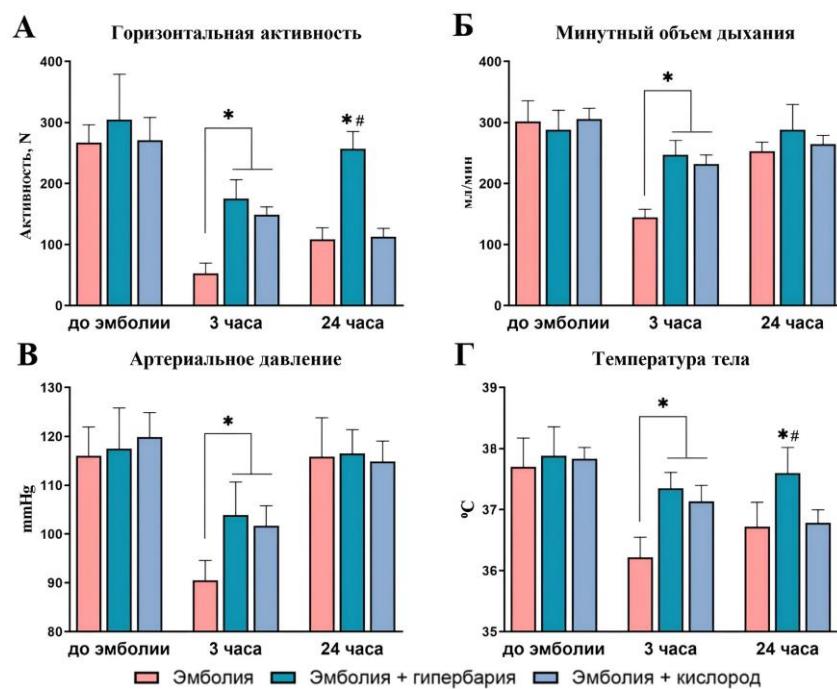


Рисунок 3. Влияние гипербарии и кислородотерапии на функциональное состояние животных спустя 3 и 24 часа после АВЭ. А – результаты горизонтальной активности крыс, полученные при наблюдении в открытом поле в течение 5-ти минут; Б – рассчитанный показатель МОД; В – результаты систолического артериального давления; Г – показатели ректальной температуры тела. * $p<0,05$ относительно контрольной группы, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan; # $p<0,05$ относительно группы с кислородотерапией, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan

При окрашивании срезов головного мозга ТТХ спустя 24 часа после АВЭ очагов поражения у животных, прошедших гипербарическую терапию, выявлено не было (Рисунок 4). Это подтверждает, что причиной повреждения ткани головного мозга при моделировании АВЭ является ишемия, вызванная закупоркой артерий воздушными пузырьками экзогенного происхождения, которые состоят на 78% из азота. Гипербарическая терапия, по-видимому, способствует устраниению этих пузырьков и восстановлению кровотока, предотвращая развитие ишемического некроза. Применение медицинского кислорода в нормобарических условиях никак не повлияло на очаги поражения в головном мозге. У всех животных с данной терапией были обнаружены не окрашенные участки коры правого полушария, что свидетельствует о гибели клеток вследствие недостаточного кровоснабжения.

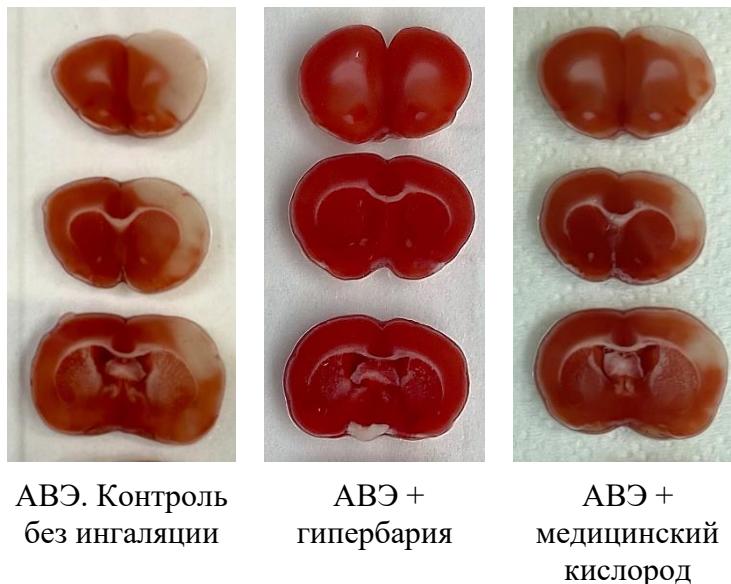


Рисунок 4. Срезы головного мозга при гипербарии и нормобарической кислородотерапии сразу после АВЭ. Окрашивание ТТХ спустя 24 часа после эмболизации

Таким образом, несмотря на то, что ингаляция медицинским кислородом временно улучшает функциональное состояние животных после АВЭ, её эффект является кратковременным и не предотвращает развитие ишемического повреждения мозга. Это подчеркивает необходимость поиска более эффективных методов терапии в нормобарических условиях.

Изучение эффективности подогретой КГС в нормобарических условиях

Альтернативным подходом оказания экстренной медицинской помощи может послужить гипероксическая КГС. Эффективность подогретой до 60-70 °C КГС «Геофарм-3» была изучена на бодрствующих крысах с моделью АВЭ. После моделирования АВЭ животных помещали в ЛИК, где они дышали газовой смесью «Геофарм-3» в течение 30-ти минут или интервально 3 раза по 5 минут с 5-ти минутными интервалами, во время которых дышали атмосферным воздухом.

Через 3 часа после эмболии у животных из группы с АВЭ наблюдалось значительное снижение горизонтальной активности, дыхательной активности и САД, а также развитие гипотермии. В группах с непрерывным и интервальным применением КГС горизонтальная активность была значительно выше, дыхательная активность сохранялась в пределах нормы, снижение САД было менее выраженным и не достигало статистической значимости, а температура тела демонстрировала лишь тенденцию к снижению (Рисунок 5).

Через 24 часа у животных из группы с АВЭ без терапии сохранялась гипотермия и сниженная подвижность, однако показатели МОД и САД вернулись к норме. В группах с КГС параметры МОД и САД оставались в норме, а локомоторная активность и температура тела вернулись к исходным значениям независимо от режима ингаляции (Рисунок 5).

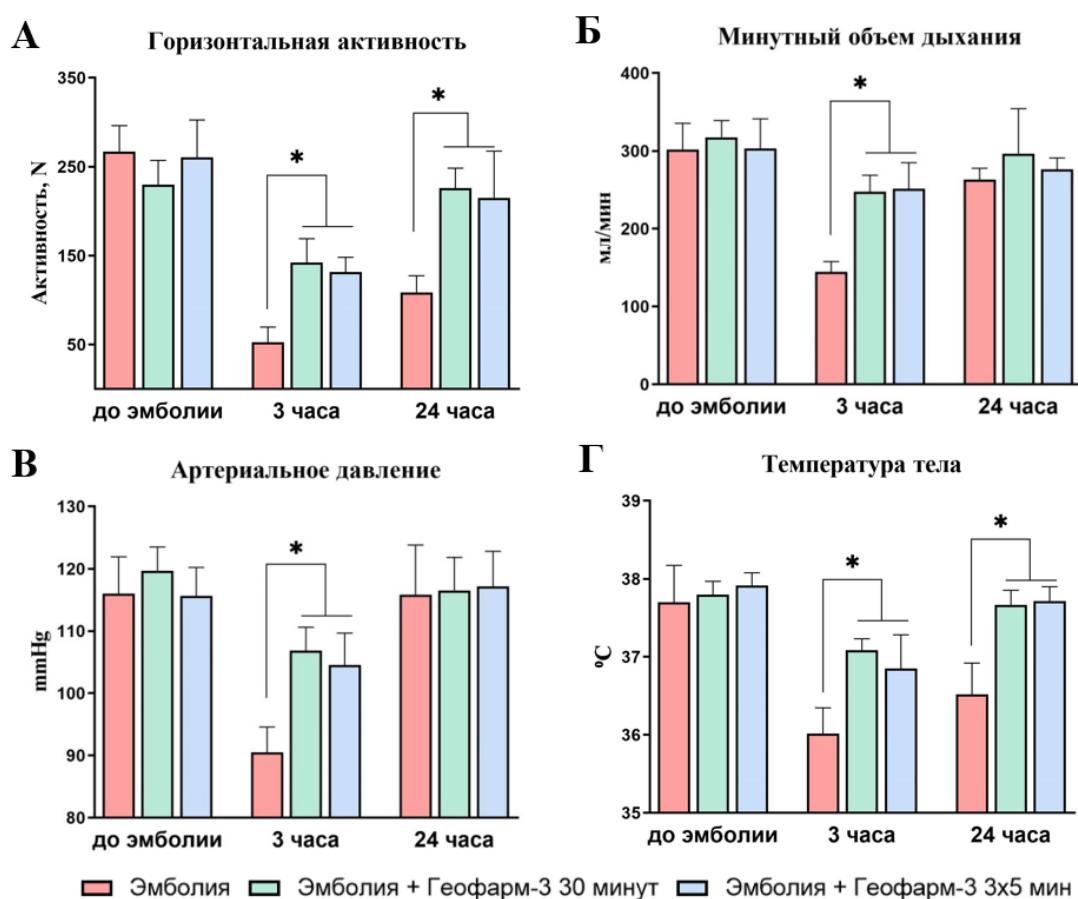


Рисунок 5. Влияние подогретой газовой смеси Геофарм-3 на функциональное состояние при АВЭ. А – результаты горизонтальной активности крыс, полученные при наблюдении в открытом поле в течение 5-ти минут; Б – рассчитанный показатель МОД; В – результаты систолического артериального давления; Г – показатели ректальной температуры тела. * $p < 0,05$ относительно контрольной группы, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan

У животных, получавших ингаляцию газовой смесью «Геофарм-3» в течение 30 минут после АВЭ, изменения в поведении и функциональных показателях были менее выражены по сравнению с контрольной группой. Через 24 часа после АВЭ у этих животных не было выявлено отклонений в поведенческих и функциональных тестах, а на срезах головного мозга отсутствовали очаги ишемического повреждения нервной ткани. Применение интервального метода ингаляции подогретой смесью «Геофарм-3» также способствовало нормализации всех исследуемых физиологических параметров и предотвращало ишемическое поражение головного мозга, демонстрируя эффект, аналогичный 30-ти минутной ингаляции.

Влияние температуры КГС на ее эффективность при экстренной терапии внутрисосудистой газовой эмболии

Влияние температуры ингаляционной газовой смеси «Геофарм-3» на её эффективность было изучено в условиях модели АВЭ. Для этого использовались три температурных режима: 20–22 °C, 40–50 °C и 60–70 °C. Применялся интервальный метод ингаляции, который предполагает чередование периодов дыхания газовой смесью и обычным воздухом.

Однократный ингаляционный сеанс подогретой до 40–50 °C или 60–70 °C ДГС «Геофарм-3» продемонстрировал выраженный защитный эффект, предотвращая ишемическое поражение головного мозга. Это, в свою очередь, позволило минимизировать функциональные изменения, связанные с АВЭ. Показатели сердечно-сосудистой и дыхательной систем у животных, получавших подогретую смесь, оставались в пределах физиологической нормы на протяжении всего исследования. Кроме того, температура тела у этих животных уже через 24 часа после моделирования АВЭ вернулась к исходным значениям, зафиксированным до эмболии, что свидетельствует о восстановлении терморегуляции и общего состояния организма (Рисунок 6).

При ингаляции КГС «Геофарм-3» комнатной температуры (20 – 22 °C) у животных с АВЭ не наблюдалось положительного эффекта. Напротив, у части животных, получивших «Геофарм-3» при такой температуре, функциональные и физиологические изменения, вызванные АВЭ, были выражены сильнее, чем у контрольной группы. Более того, некоторые животные из этой группы погибли, что указывает на потенциально негативное влияние данной терапии. Это существенно отличает данную группу от остальных экспериментальных групп, в которых не было отмечено летальных исходов в течение первых 24 часов после моделирования АВЭ, включая контрольную группу. Данный случай стал первым и единственным, когда наблюдалась гибель животных в течение первых суток после эмболии. При изучении функциональных показателей и срезов головного мозга было установлено, что ингаляционный сеанс газовой смесью «Геофарм-3» при комнатной температуре (20 – 22 °C) оказал положительный эффект лишь у двух животных из восьми. Вероятно, это связано с высокой теплоемкостью гелия, который, являясь основным компонентом смеси, способствует быстрому

охлаждению организма. У крыс, перенесших эмболизацию, уже наблюдалась гипотермия как часть патологического процесса, и дополнительное охлаждение при ингаляции смесью комнатной температуры могло усугубить состояние, приведя к необратимому снижению температуры тела. Переохлаждение, в свою очередь, могло привести к адаптивному ответу организма, направленную на сохранение тепла – вазоконстрикция, что значительно уменьшило вероятность резорбции воздушного эмболя при помощи КГС. Таким образом, вместо ожидаемого терапевтического эффекта, ингаляция КГС комнатной температуры могла усугубить ишемические повреждения и способствовать прогрессированию патологического процесса.

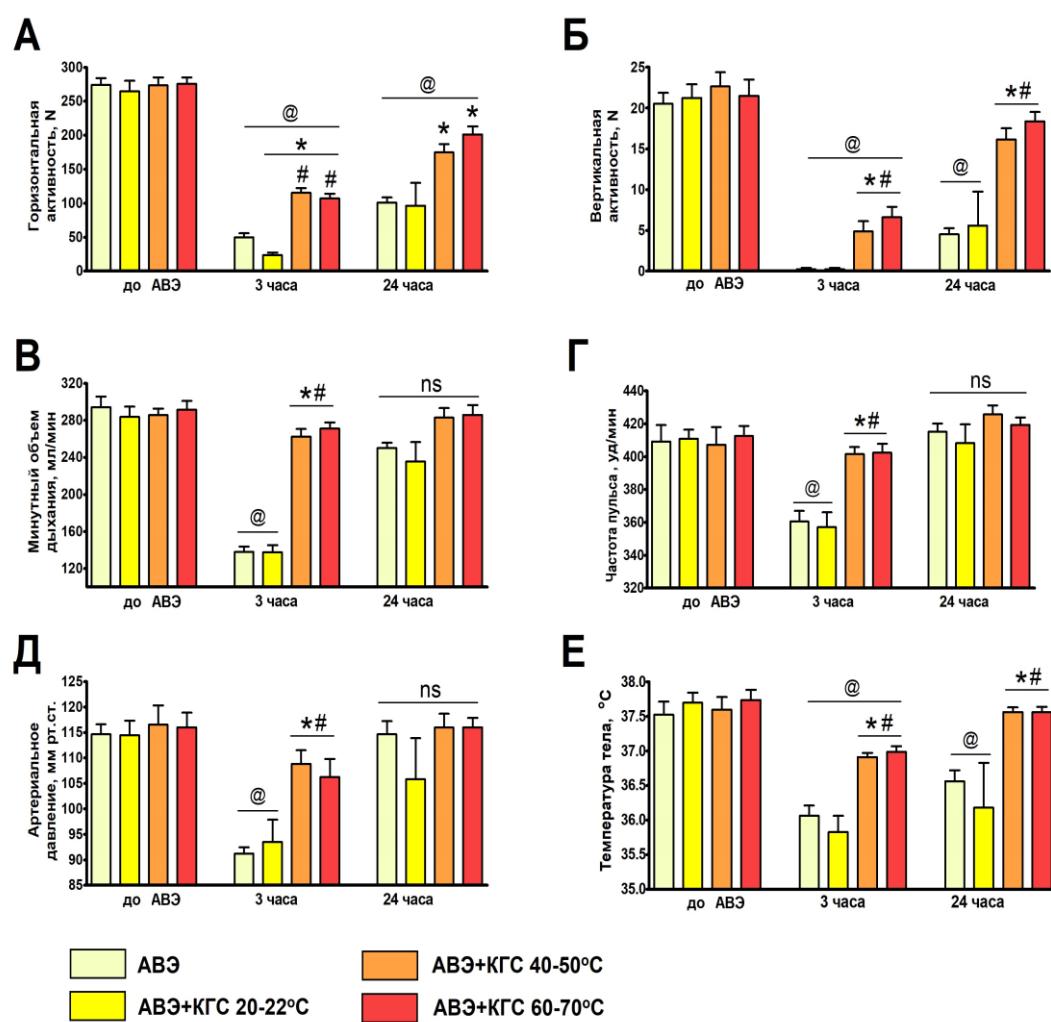


Рисунок 6. Влияние газовой смеси Геофарм-3 разной температуры на функциональное состояние животных при АВЭ. А – горизонтальная активность в открытом поле в течение 5 минут; Б – вертикальная активность при наблюдении в открытом поле в течение 5 минут; В – минутный объем дыхания; Г – частота пульса; Д – систолическое артериальное давление; Е – температура тела. * $p<0,05$ относительно группы 1, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan; # $p<0,05$ относительно группы 2, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan; @ $p<0,05$ относительно значений своей группы до моделирования, one-way ANOVA repeated measures

Таким образом, результаты исследования подчеркивают, что применение «Геофарм-3» без подогрева может быть не только малоэффективным, но и потенциально опасным в условиях АВЭ. Полученные данные подтверждают важность температурного фактора для достижения максимального защитного действия газовой смеси и предотвращения негативных последствий АВЭ.

Определение оптимального периода времени от момента возникновения газовой эмболии до применения КГС

Для решения этой задачи ингаляция подогретой газовой смесью «Геофарм-3» была применена через 1 час, 2 часа и 3 часа после моделирования АВЭ у бодрствующих крыс.

Терапия подогретой газовой смесью «Геофарм-3» показала наибольшую эффективность при проведении сразу или в течение первого часа после моделирования АВЭ. В этих группах наблюдалось значительное улучшение локомоторной активности, показатели МОД и САД оставались близкими к исходным значениям, а температура тела сохранялась в пределах нормы.

Напротив, проведение терапии спустя 2 и 3 часа после АВЭ не только не улучшило состояние животных, но и усугубило патологическое течение. У этих групп отмечалось снижение двигательной активности, ухудшение показателей дыхательной системы (МОД), отсутствие восстановления САД до исходных значений через 24 часа, а также развитие гипотермии (Рисунок 7).

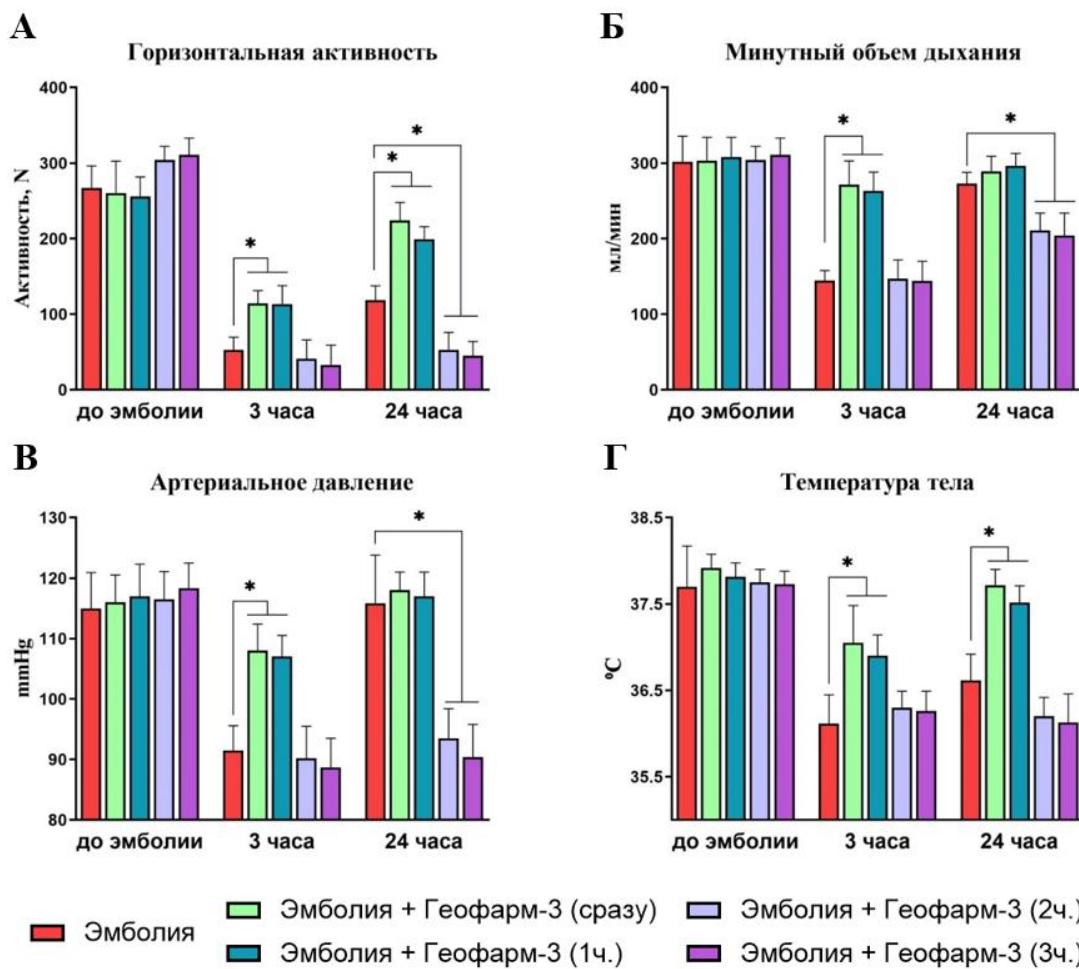


Рисунок 7. Влияние периода ГеоФарм-3 на функциональное состояние животных при АВЭ. А – результаты горизонтальной активности крыс, полученные при наблюдении в открытом поле в течение 5-ти минут; Б – рассчитанный показатель МОД; В – результаты систолического артериального давления; Г – показатели ректальной температуры тела. * $p < 0,05$ относительно контрольной группы, one-way ANOVA с последующим тестом Duncan

Спустя 24 часа у животных с АВЭ без терапии обнаруживаются мультифокальные очаги ишемического инсульта. В ишемизированных областях наблюдается гибель клеток, характеризующаяся ядерными пикнотическими изменениями. У животных с применением КГС сразу после АВЭ или спустя 1 час после АВЭ отсутствуют участки повреждения ткани головного мозга. У животных с применением КГС спустя 2 или 3 часа после АВЭ наблюдалась геморрагическая трансформация очага ишемического инфаркта (Рисунок 8).

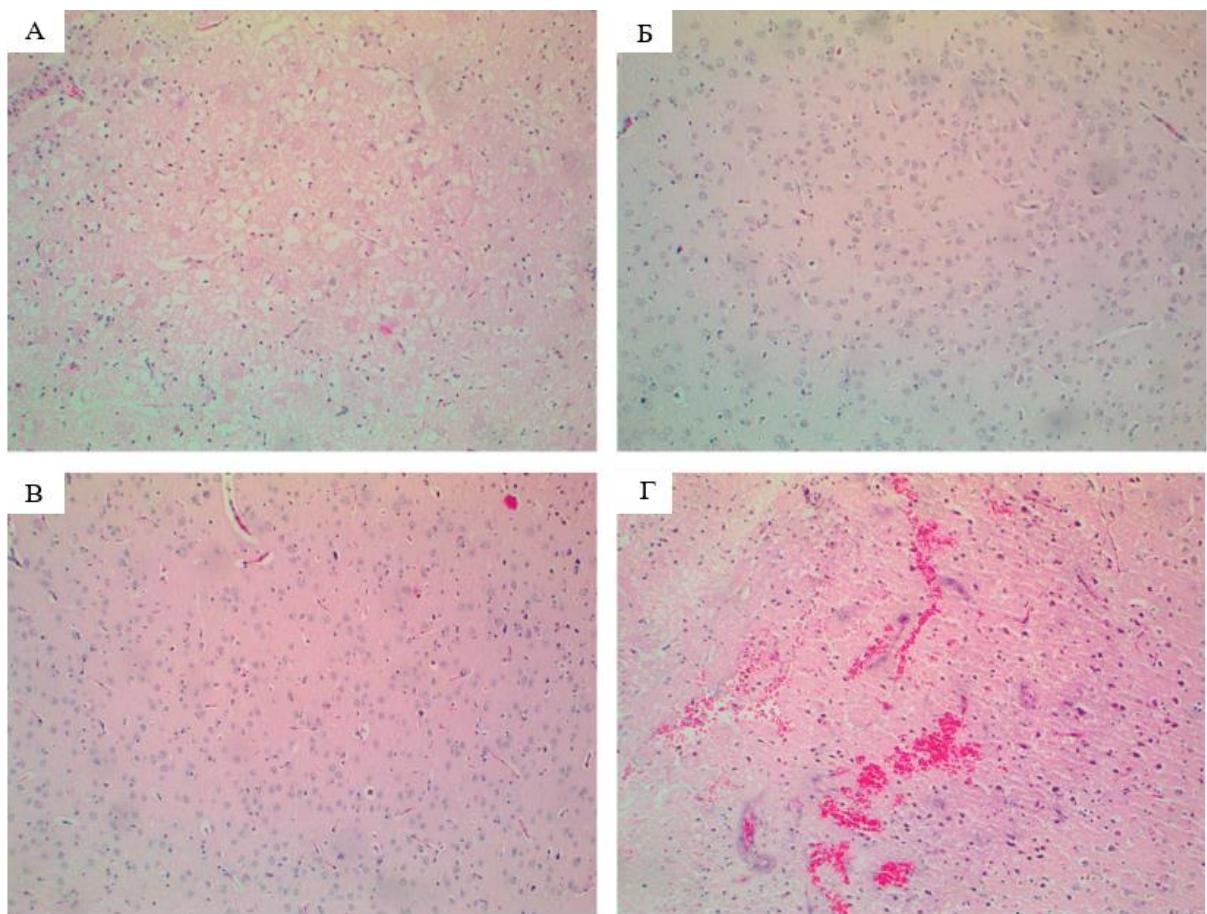


Рисунок 8. Гистологические снимки фронтальных срезов головного мозга спустя 24 часа после АВЭ. Окрашивание гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$. А – очаг ишемического инсульта у животного из группы с АВЭ без терапии; Б – головной мозг животного из группы с АВЭ и терапией КГС сразу после эмболии; В – головной мозг животного из группы с АВЭ и терапией КГС спустя час после эмболии; Г – очаг геморрагического инсульта у животного из группы с АВЭ и терапией КГС спустя 2 часа после эмболии

Таким образом, полученные данные подчеркивают важность своевременного применения КГС в рамках «терапевтического окна» для минимизации рисков геморрагической трансформации. Промедление с началом терапии не только снижает ее эффективность, но и может привести к серьезным осложнениям, что согласуется с клиническими наблюдениями у людей. Эти результаты имеют важное значение для разработки стратегий лечения пациентов с ВЭ и другими состояниями, связанными с ишемией и реперфузией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цереброваскулярная окклюзия, вызванная ВЭ, представляет собой серьезное патологическое состояние, при котором пузырьки воздуха блокируют кровоток в сосудах головного мозга, приводя к ишемии. Ишемия, в свою очередь, вызывает нарушение метаболизма нервных клеток, их кислородное голодание и, при отсутствии своевременного восстановления кровоснабжения, гибель нейронов. Это может привести к необратимым неврологическим дефицитам, таким как когнитивные нарушения, двигательные дисфункции и даже летальный исход.

Основным методом лечения ВЭ на сегодняшний день является ГБО, которая позволяет повлиять на воздушные пузырьки за счет повышения давления и насыщения крови кислородом. Однако ГБО имеет существенные ограничения: она доступна далеко не во всех медицинских учреждениях, требует специального оборудования и подготовки персонала, а также времени для транспортировки пациента к барокамере. Это делает ГБО недоступной для экстренного применения в большинстве случаев, особенно в удаленных регионах или в условиях чрезвычайных ситуаций. В результате возникает острая необходимость в разработке альтернативных, более доступных методов неотложной терапии ВЭ.

Таким образом, исследования в этой области имеют высокую научную и практическую значимость, так как направлены на решение актуальной проблемы, связанной с отсутствием доступных методов лечения ВЭ. Разработка и внедрение новых подходов, таких как использование инертных газов, могут существенно улучшить исходы у пациентов с этим опасным состоянием и снизить риск необратимых повреждений головного мозга.

Для проверки гипотезы об использовании инертных газов была разработана модель церебральной АВЭ у бодрствующих крыс. В отличие от методов под наркозом, данная модель исключает влияние анестезии на ключевые физиологические параметры, способные оказывать влияние течение патологических процессов.

Наша модель, напротив, позволяет наблюдать за развитием эмболии в условиях, максимально приближенных к реальным, поскольку крысы находятся в сознании, и их организм реагирует на патологический процесс без вмешательства анестезирующих веществ. В ходе экспериментов у крыс наблюдались приступы психоза, изменения функциональных и физиологических параметров, такие как нарушения двигательной активности, судороги и изменения поведения, которые схожи с симптомами, описанными в клинической практике у пациентов с ВЭ. Релевантность и валидность модели была доказана, применением гипербарии в качестве экстренной терапии.

Применение однократного ингаляционного сеанса подогретой КГС «Геофарм-3» в течение первого часа после возникновения газовой эмболии, в отличие от ингаляции

медицинским кислородом, предотвращает ишемические повреждения, вызванные инфузией атмосферного воздуха в сонную артерию у бодрствующих крыс.

Также во время работы были обнаружены основные ограничения экспериментальной терапии КГС «Геофарм-3» на биологической модели с использованием лабораторных крыс. В первую очередь это связано с температурным режимом подаваемой газовой смеси. Применение КГС комнатной температуры в подавляющем большинстве случаев приводило к осложнениям течения патологического процесса, вызванного АВЭ. К тому же временной интервал от начала ишемии до ингаляционного сеанса КГС должен составлять не более одного часа. В противном случае возможна трансформация ишемического инсульта в геморрагический.

В результате работы можно выдвинуть основное заключение о том, что подогретая дыхательная гипероксическая КГС может быть использована в нормобарических условиях для купирования ишемических осложнений после травм, вызывающих нарушение аэрогематического барьера легких. Это открывает новые возможности для разработки портативных устройств и протоколов экстренной терапии, которые могут быть использованы как в медицинских учреждениях, так и в полевых условиях, например, при оказании помощи дайверам, пилотам, пациентам с ятрогенными осложнениями или в военно-полевой медицине.

ВЫВОДЫ

1. Разработана релевантная модель цереброваскулярной воздушной эмболии с использованием бодрствующих крыс, позволяющая наблюдать за развитием патологических процессов без вмешательства анестезирующих веществ.

2. У животных, получивших гипербарическую терапию после АВЭ, не было обнаружено отклонений в поведении и очагов ишемического повреждения ткани головного мозга. Ингаляция медицинским кислородом в течение 30 минут вызывает временное улучшение физиологических параметров у крыс с АВЭ, однако спустя 24 часа у всех животных обнаруживались очаги ишемического поражения головного мозга.

3. Использование как интервальной ингаляции КГС, так и 30-минутной ингаляции сразу после цереброваскулярной эмболизации предотвращает повреждающее действие АВЭ.

4. Выявлены основные ограничения применения КГС: ингаляционный сеанс подогретой КГС через 2 часа и более не оказывает защитного действия от АВЭ; использование дыхательной смеси комнатной температуры (20 – 22 °C) негативно влияет на течение и исход АВЭ.

**СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ
ДИССЕРТАЦИИ**

1. Паликов, В. А. Моделирование ишемического поражения головного мозга у бодрствующих крыс с помощью артериальной воздушной эмболии / Паликов В. А., Павлов Н. Б., Амиров Р. Р. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2024. — Т. 177. — № 5. — С. 554-559.
2. Паликов, В. А. Экспериментальная модель церебральной артериальной воздушной эмболии на бодрствующих крысах / Паликов В. А., Мурашев А. Н., Амиров Р. Р. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2024. — Т. 177. — № 5. — С. 634-639.
3. Логунов, А. Т. Воздушная эмболия. Прерогатива водолазного врача, медицинская казуистика или проблема, которой «не существует»? / Логунов А. Т., Мосягин И. Г., Строй А. В. [и др.] // Морская медицина. — 2024. — Т. 10. — № 2. — С. 58-68.
4. Паликов, В. А. Применение гипероксической подогретой гелий-кислородной смеси в экспериментальной модели церебральной артериальной воздушной эмболии / Паликов В. А., Павлов Н. Б., Амиров Р. Р. [и др.] // Биомедицина. — 2024. — Т. 20. — № 3Е. — С. 140-146.
5. Паликов, В. А. Интервальное ингаляционное применение кислородно-гелиевой смеси устраниет последствия церебральной артериальной воздушной эмболии у крыс / Паликов В. А., Павлов Н. Б., Исмаилова А. М. [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. — 2024. — Т. 74. — № 5. — С. 632-637.
6. Palikov, V. Effect of a helium and oxygen mixture on physiological parameters of rats with cerebral arterial air embolism / Palikov V., Pavlov N., Amirov R. [et al.] // Frontiers in Physiology. — 2024. — Vol. 15. — № 1388331.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АВЭ — Артериальная воздушная эмболия
ВЭ — Воздушная эмболия
ГБО — Гипербарическая оксигенация
ДГС — Дыхательная газовая смесь
КГС — Кислородно-гелиевая смесь
ЛИК — Лабораторный ингаляционный комплекс
МОД — Минутный объем дыхания
САД — Систолическое артериальное давление
ССС — Сердечно-сосудистая система
ТТХ — 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид