

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 57.021+57.023

Влияние ингаляций аргоном на поведение крыс в модели пренатальной алкогольной интоксикации

И.А. Кабиольский^{1, 2, *} , П.Д. Панасенков², А.В. Лобода², С.В. Потапов²,
Н.Ю. Сарычева¹, В.А. Дубынин¹

¹ Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

² ООО «ИнертГаз Медикал», Россия, 143005, г. Москва, ул. Нобеля, д. 7

*e-mail: ilyakab1999@gmail.com

Употребление алкоголя во время беременности способно нарушать развитие плода и повышает риск рождения ребенка с неврологическими и когнитивными нарушениями. В связи с этим поиск путей коррекции расстройств, вызванных пренатальным воздействием этанола, является актуальным. В настоящей работе проводится оценка влияния многократных ингаляций аргонсодержащей смесью (74% Ar, 21% O₂, 5% N₂) в сравнении с ингаляцией искусственным воздухом (79% N₂, 21% O₂) на поведение белых крыс в модели пренатальной алкогольной интоксикации. Ингаляции осуществляли в раннем постнатальном периоде с 6-х по 15-е сут жизни. У потомства, подвергнутого пренатальной алкогольной интоксикации, наблюдалось снижение качества вестибуло-спинальных рефлексов (6-е сут), а также подавление ориентировочно-исследовательского поведения, что было показано как в раннем постнатальном возрасте (4-е и 5-е сут), так и на более поздних сроках (21-е и 25-е сут). У пренатально алкоголизированных животных было отмечено усиление выраженности смещенной активности (реакции груминга). Пренатальное воздействие алкоголя привело к когнитивным нарушениям, которые отразились в ухудшении качества формирования пищедобывательного навыка в «сложном пищевом лабиринте». Ингаляции аргоном позволили скорректировать нарушения способности к обучению в данном тесте. Значимого влияния ингаляций аргонсодержащей смеси на другие параметры исследуемого поведения не было обнаружено.

Ключевые слова: аргон, пренатальная алкогольная интоксикация, поведение, двигательные рефлексы, обучение, крысы

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-1-1

Введение

Известно, что инертный газ аргон вызывает ряд характерных физиологических эффектов. В работах, проводимых на культурах клеток и в моделях *in vivo*, показано, что аргон обладает нейропротективными и антиапоптотическими свойствами [1, 2]. Механизм действия аргона связан с ингибированием активности и снижением плотности рецепторов врожденного иммунитета – Toll-подобных рецепторов (TLR, Toll-like receptor) 2-го и 4-го типов, что приводит к увеличению количества фосфорилированной ERK 1/2-киназы и снижению содержания фосфорилированного NF-κB. В результате аргон уменьшает содержание белка BAX (Bcl-2-associated X protein, Bcl-2-ассоциированный X-белок), ускоряющего запрограммированную гибель клеток, и напротив, увеличивает содержание ингибитора

апоптоза Bcl-2, что приводит к увеличению выживаемости нейронов [3].

Нарушение активности системы врожденного иммунитета, которое может провоцировать избыточную гибель нейронов, характерно для некоторых психоэмоциональных расстройств. Такие изменения типичны и для фетального алкогольного спектра нарушений (ФАСН). Известно, что пренатальная алкоголизация плода может приводить к повышению экспрессии белков передачи внутриклеточных путей TLR-сигналикации, включая TLR-3 и TLR-4, адаптерные белки, а также провоспалительные цитокины [4]. Воздействие алкоголя на развивающуюся нервную систему в пренатальном периоде приводит к переключению микроглии на провоспалительный фенотип и увеличению экспрессии провоспалительных цитоки-

нов у потомства; отмечено также снижение дофаминергических проекций в неокортексе [5]. Кроме того, известно, что нейровоспаление, вызванное действием алкоголя через TLR-2 и TLR-4, приводит к когнитивным нарушениям и увеличению тревожности у животных [6, 7].

Поскольку из литературных данных следует, что некоторые мишени действия аргона и алкоголя совпадают, причем направленность действия этих химических факторов противоположна, нами было выдвинуто предположение о возможности применения аргона с целью коррекции последствий пренатального воздействия алкоголя.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Исследования выполнены на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Работа проводилась на потомстве крыс (N = 74) от 8 самок стока Wistar, поступивших из питомника «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России. Всех животных содержали в стандартных условиях вивария с доступом к пище и воде *ad libitum*, за исключением тестов, включающих период обучения на фоне пищевой депривации. Длительность светового дня составляла 12 ч (8:00–20:00). День рождения крыс принимали за нулевой день жизни (0 ПНС: «ПНС» — постнатальные сутки).

Моделирование пренатальной алкогольной интоксикации. После спаривания самок переселяли в отдельные клетки. При отсадке половине из них предоставляли в качестве единственного источника жидкости 10%-ный раствор этанола на весь срок беременности и на 1–6-е сут после рождения потомства. Другая половина самок получала как источник питья обычную воду.

Методика ингаляций. Ингаляционная установка представляет собой полипропиленовый герметичный контейнер, присоединенный к газопроводному контуру. Контур включает в себя датчики концентрации кислорода и аргона, камеру с абсорбером углекислого газа Sodasorb (GCP Applied Technologies Inc., Россия), а также двумя дыхательными резервными мешками и однонаправленными клапанами. Последние позволяли прокачивать газовую смесь вручную в одном направлении, создавая газовый поток по циклу через датчики, абсорбер углекислого газа и контейнер с экспериментальными животными. Газовая смесь создается путем подключения потока со скоростью 4 л/мин целевого газа (Ar — опыт, N₂ — вещество сравнения) и 1 л/мин кислорода, которые постепенно замещают изначальную газовую среду внутри ингаляционной установки. Датчик кислорода позволяет исследователю избегать создания ситуации гипоксии и вручную добавлять кислород в контур для достижения нужной концентрации. Концентрация кислорода отслежива-

ется и поддерживается на уровне $21 \pm 1\%$. Ингаляции крыс проводились ежедневно с 6 ПНС по 15 ПНС включительно.

6 ПНС соответствует примерно 30–33 нед. беременности (II степени недоношенности) у человека [8]. Рождение недоношенных детей в свою очередь является частым событием при злоупотреблении алкоголя беременными [9].

Продолжительность ингаляции в наших экспериментах составляла 50 мин, время засекалось с момента достижения нужной концентрации аргона либо через 5 мин после продувания контура азот-кислородной смесью. Потомство здоровых и алкоголизированных самок разделили пополам на группы, ингаляции которым проводились либо азот-кислородной смесью (79% N₂, 21% O₂) либо аргон-кислородной (74% Ar, 21% O₂, 5% N₂) смесью, в которой всегда находились остаточные количества азота ввиду того, что процесс приготовления газовой смеси осуществлялся вручную. Во время ингаляции под контейнер помещали нагревательный элемент с термостатом (37°C у дна контейнера), чтобы избежать нарушения терморегуляции детенышей. Длительность всей процедуры, включая процесс получения смеси с нужными концентрациями, не превышала 1 ч.

Поведенческие тесты в раннем постнатальном периоде. Сроки для проведения тестов в раннем постнатальном периоде были выбраны согласно данным о периоде развития локомоторных рефлексов у крыс [10]. С 4-х по 6-е ПНС в течение 180 с у потомства оценивали уровень локомоторной и ориентировочной активности. Регистрировали следующие параметры: количество поворотов головы (отклонение головы от линии тела на 45° и более), продолжительность поворотов головы, количество поворотов корпуса (акт перемещения тела на произвольный угол при помощи отталкивания передними лапами), общее количество двигательных актов.

Также ежедневно с 4-х по 6-е ПНС включительно тестировался рефлекс переворота со спины (righting reflex). Детеныша клали на спину и засекали время, за которое он перевернется на все четыре лапы. Максимальное время регистрации составляло 60 с.

Тест «Открытое поле» (ОП). Тест в установке «Открытое поле» (ОО «НПК Открытая Наука», Россия) проводили на 21-е ПНС. Установка представляет собой круглую пластиковую арену (диаметр 63 см, высота стенок 32 см). Красная (15 Вт) лампа находится на высоте 80 см от центра арены. Пол арены расчерчен двумя концентрическими окружностями, находящимися на равном расстоянии (10 см) друг от друга и от края арены, разделяя всю арену на периферическую часть, внутреннее кольцо и центральный круг. Также пол арены разделен радиальными отрезками прямых, делящими поле на 19 равных по площади сегментов. В ходе

опыта животное помещают в центр арены и в течение 5 мин осуществляют видеосъемку. Оценивали число стоек с опорой и без опоры, сумму пройденных секторов и радиальных перемещений от периферии к центру и обратно (отходы от стенки арены, выходы в центр арены); количество коротких актов груминга (умывания), а также продолжительность груминга, происходящего длительное время; число актов дефекации; время, проведенное на периферии и в центре арены; латентный период первого подхода к стенке арены.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Тест в установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) проводили на 25-е ПНС. Лабиринт представляет собой пластмассовый горизонтальный равносторонний крест (длина лучей 50 см, ширина 15 см), два противоположных рукава которого имеют боковые и торцевые стенки высотой 30 см. Два других рукава открыты. Открытые рукава размечены: один отрезок отделяет светлый рукав от центрального квадрата, второй делит длину рукава пополам. Открытые рукава освещаются яркими лампами (60 Вт), находящимися на расстоянии 25–30 см от конца каждого рукава. Животное в начале опыта помещали в центр лабиринта головой в сторону света. Тестирование продолжалось 5 мин с осуществлением видеосъемки. Отмечали число стоек на свету, в темноте и в центре; продолжительность груминга; число выглядываний из темного отсека; число пересечений внутренней границы освещенного рукава; число пересечений наружной границы освещенного рукава (выходы на край рукава); число свешиваний со светлого рукава; число свешиваний с края светлого рукава; число свешиваний из темного рукава (задние лапы животного при свешивании остаются в темном рукаве); суммарное время, проведенное на свету, в темноте, в центре; латентный период входа в темный отсек.

Тест «Сложный пищевой лабиринт» (СПЛ). Установка представляет собой квадратную камеру, разделенную пятью прозрачными перегородками на 6 коридоров. В каждой перегородке в центре, справа либо слева имеется прямоугольное отверстие. В первый день эксперимента крыс помещали в лабиринт на 30 мин с целью адаптации. При этом по всей площади лабиринта раскладывали большое количество корма (шариков из хлеба). После этого животных подвергали 24-часовой пищевой депривации. В последующие 4 дня крыс помещали в лабиринт по 5 раз подряд ежедневно, длительность каждой посадки не превышала 3 мин. Животное помещалось в стартовый угол лабиринта, а пищевое подкрепление — в наиболее удаленный противоположный угол. Регистрировали следующие показатели: число выполненных реакций (число случаев, когда животное находит пищевое подкрепление в течение 3 мин пребыва-

ния в лабиринте); количество ошибок (число любых отклонений от оптимальной траектории движения); время выполнения реакции; количество вертикальных стоек; количество актов груминга.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ данных производили с помощью пакета программ GraphPad Prism 8.2.0. (GraphPad Software, США). Для оценки исследуемых параметров применяли трехфакторный дисперсионный анализ (Three-way ANOVA). Оценивали вклад следующих факторов: «Модель» — фактор моделирования пренатального алкогольного воздействия («Контроль» vs «ПА» — пренатальная алкоголизация), «Газ» — фактор используемой газовой смеси («Азот» vs «Аргон»), «Пол» — половые различия. В качестве post hoc-анализа применяли критерий Шидака для поправки на множественную проверку гипотез. По результатам обработки первичных данных не было обнаружено влияния фактора «Пол» и его взаимодействия с другими факторами. С учетом этого мы производили консолидацию выборки, объединяя самцов и самок из одной подгруппы, применяя затем для оценки различий двухфакторный дисперсионный анализ (Two-way ANOVA). При анализе результатов тестов в раннем постнатальном периоде дополнительно анализировали фактор «Сутки проведения теста». При отсутствии взаимодействия этого фактора с фактором «Модель» проводили оценку результатов в отдельные дни тестирования с помощью критерия Манна-Уитни для выборок, не соответствующих нормальному распределению (тест Шапиро-Уилка). Отличия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Влияние пренатальной алкогольной интоксикации на параметры ориентировочного рефлекса и рефлекса переворота со спины. В раннем постнатальном периоде (с 4-х по 6-е ПНС) была произведена оценка влияния пренатальной алкогольной интоксикации на реализацию рефлексов поворота головы и переворота со спины (рис. 1). Пренатальная алкоголизация не привела к статистически значимому ($p = 0,0501$; $F(1, 72) = 3,971$, фактор «Контроль»/«ПА») снижению времени, проводимому в состоянии ориентировочного вращения головой, на протяжении 4-х, 5-х и 6-х сут тестирования (рис. 1А). Однако, если исключить из расчета 6-е сутки тестирования, различия между группами становятся статистически значимыми ($p = 0,0457$; $F(1, 72) = 4,133$, фактор «Контроль»/«ПА»). Это позволяет сделать вывод о том, что пренатальная алкогольная интоксикация подавляет проявления ориентировочных рефлексов на раннем этапе постнатального онтогенеза. К 6-ым ПНС ее влияние на соответствующие реакции слабеет.

При оценке времени реакции переворота со спины с учетом всех 3-х сут исследования стати-

стически значимого влияния фактора «Модель» не выявлено (рис. 1Б). Однако рассмотрение только 6-х ПНС позволяет обнаружить эффект пренатального воздействия алкоголя. Потомство опытной группы выполняет реакцию переворота значительно медленнее ($p = 0,0065$; критерий Манна-Уитни), что позволяет говорить о некотором угнетении вестибуло-спинальных рефлексов у потомства, подвергнутого алкогольной интоксикации.

Оценка отставленного эффекта влияния ингаляций аргоном на локомоторную и ориентировочно-исследовательскую активность в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». В тесте «ОП» животные, подвергшиеся пренатальной алкогольной интоксикации, совершали меньше стоек с опорой ($p = 0,0188$; $F(1, 66) = 5,805$, фактор «Модель»; рис. 2А); кроме того, у них увеличена суммарная продолжительность груминга ($p = 0,0092$; $F(1, 66) = 7,195$; рис. 2Б).

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» пренатально алкоголизованные животные проводили меньше времени в темном отсеке лабиринта и больше в центральной части (рис. 2В, 2Г), при этом время, проведенное на освещенных участках лабиринта, не различалось у групп «Контроль» и «ПА». У пренатально алкоголизованных животных снижалось количество стоек без опоры внутри темного отсека ($p = 0,0284$; $F(1, 67) = 5,015$, фактор «Модель»; рис. 2Д).

В данных тестах статистически значимых влияний ингаляций на поведение не обнаружено.

Оценка отставленных влияний ингаляций аргоном на способность животных к формированию сложного пищедобывательного навыка. У контрольных животных, подвергавшихся ингаляциям как азот-кислородной, так и аргон-кислородной сме-

сями, произошло значимое снижение количества ошибок к последнему дню обучения по сравнению с первым (рис. 3А, слева). У пренатально алкоголизованных животных количество ошибок, совершаемых на 4-е сут обучения, не было значимо снижено по сравнению с 1-ми сут ($p = 0,5511$, критерий Шидака; рис. 3А). При этом число выполненных реакций в группах не различалось. Эффект алкоголизации в отношении количества ошибок компенсировался ингаляцией аргон-кислородной смесью (рис. 3А, справа).

Животные, получавшие ингаляции аргоном, как контрольные, так и алкоголизованные, достигали пищевого подкрепления быстрее животных, дышавших азот-кислородной смесью (рис. 3Б). Кроме того, у них было значимо снижено число стоек (рис. 3В).

Обсуждение

Известно, что нарушение контроля двигательных реакций характерно для детей с фетальным алкогольным синдромом [11]. Согласно полученным нами результатам, пренатальная алкоголизация оказала влияние как на ориентировочную активность (4-е и 5-е ПНС), так и в некоторой степени на время выполнения вестибуломоторной реакции (только 6-е ПНС). Мы предполагаем, что различия между двумя группами могли быть отчасти нивелированы регулярным проведением тестирований, при которых потомство изымали от матери. Неонатальный хэндлинг и отделение от матери могут приводить как к положительным, так и к негативным изменениям в развитии потомства [12]. В связи с этим воздействие процедур тестирования могло сказаться на относительно небольшой выраженности эффектов пренатальной алкоголизации.

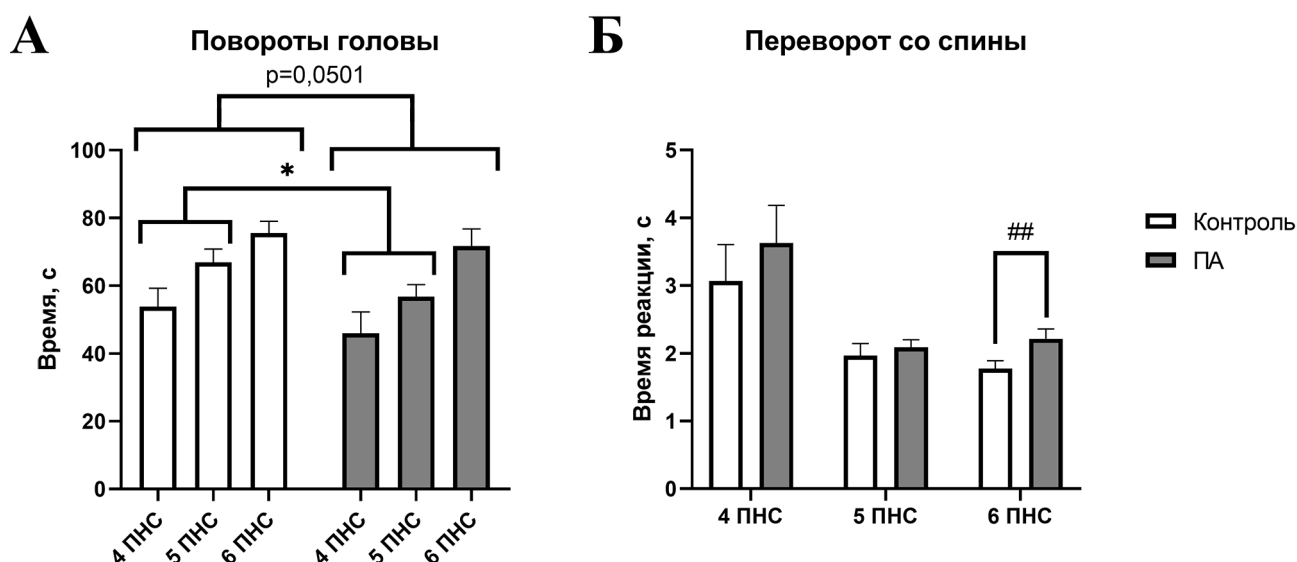


Рис. 1. Результаты тестирования активности рефлексов в раннем постнатальном периоде. Данные представлены в виде среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. «Контроль» – животные без пренатального воздействия ($N = 40$), «ПА» – пренатально алкоголизованные животные ($N = 34$), «ПНС» – постнатальные сут. **А.** Суммарное время, потраченное на повороты головы; **Б.** Время переворота со спины на лапы. Статистическая значимость влияний факторов или межгрупповых различий по результатам двухфакторного анализа: * – $p < 0,05$; статистически значимые различия по результатам критерия Манна-Уитни: ## – $p < 0,01$.

В нашей работе показано явное снижение количества стоек у пренатально алкоголизированных крыс в «ОП». Это согласуется с данными Груздевой с соавт., использовавшими более тяжелое воздействие, чем в нашей модели (применяли 15%-ный раствор этанола в течение всего срока беременности) [13]. Также нами отмечено изменение продолжительности реакций груминга – смещенной активности, которая характерна для ситуаций отсутствия готовых паттернов поведения в новых условиях. В литературе описано функциональное различие между короткими стереотипич-

ными актами груминга, коррелирующими с повышенной тревожностью, и более естественными продолжительными актами груминга, характерными для спокойного состояния грызунов [14]. В нашей работе продолжительность актов груминга в опытной группе значимо увеличилась.

Известно, что пренатальное воздействие алкоголя обычно приводит к повышению тревожности у крыс [13]. В нашей экспериментальной серии такой эффект не был показан; мы наблюдали снижение времени, проводимого в темном отсеке «ПКЛ». Это, с одной стороны, свидетельствует о снижении

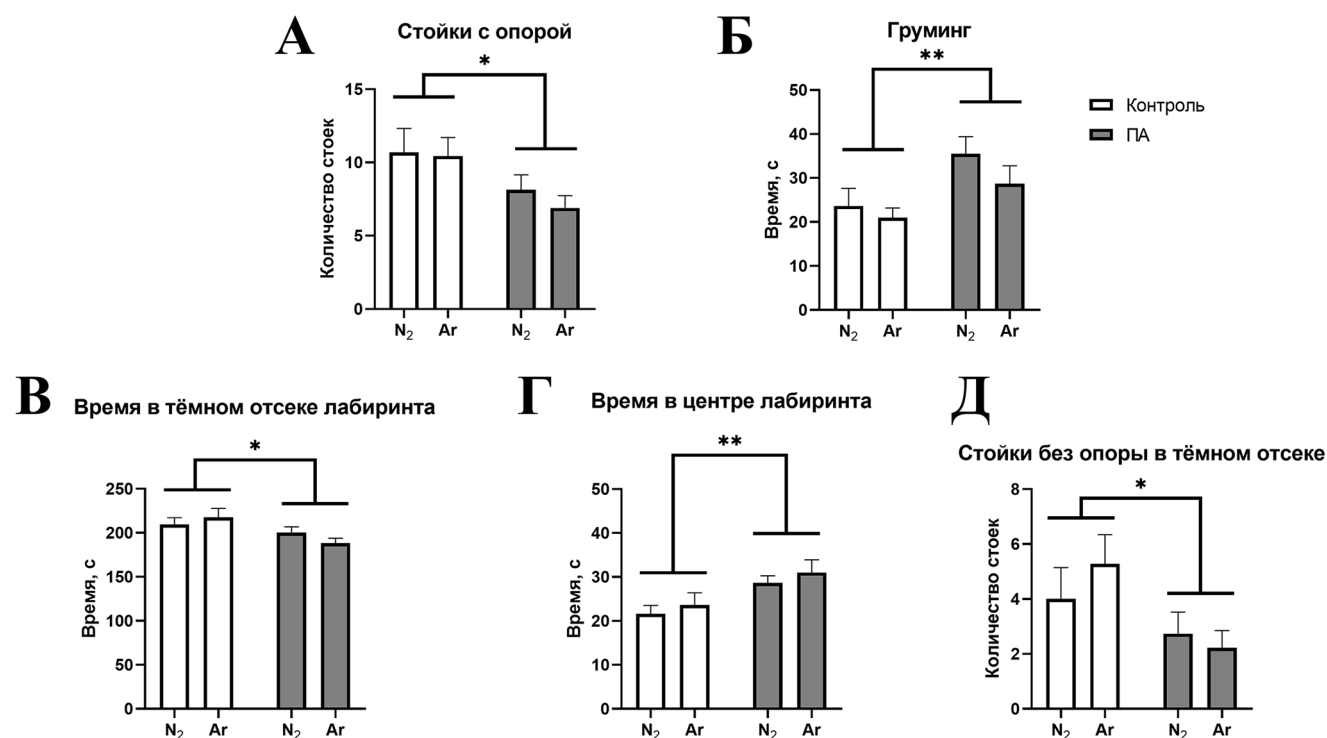


Рис. 2. Параметры поведения в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». А. Количество стоек с опорой в «Открытом поле»; Б. Продолжительность груминга в «Открытом поле»; В. Время, проведенное в темном отсеке лабиринта; Г. Время, проведенное в центральной части лабиринта; Д. Количество стоек без опоры в темном отсеке лабиринта. Данные представлены в виде среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. «Контроль» – животные без пренатального воздействия, «ПА» – пренатально алкоголизированные животные. N(Контроль + N₂) = 20/19(11♂ + 9♀ – «ПКЛ» / 8♀ – «ОП», один выброс); N(Контроль + Ar) = 18(9♂ + 9♀); N(ПА + N₂) = 15(6♂ + 9♀); N(ПА + Ar) = 18(8♂ + 10♀). Статистическая значимость влияний факторов или межгрупповых различий: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

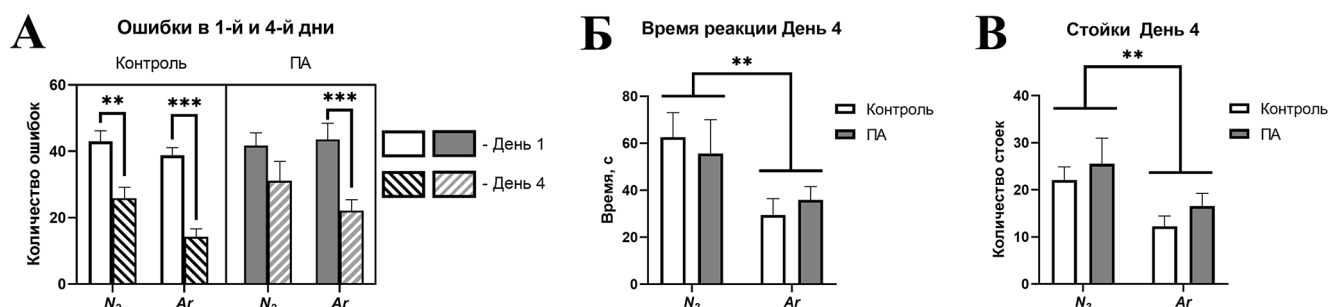


Рис. 3. Результаты тестирования в установке «Сложный пищевой лабиринт». А. Сравнение количества ошибок в первый и последний дни тестирования в разных экспериментальных группах; Б. Время, за которое животные достигали пищевого подкрепления, на четвертый день тестирования; В. Количество стоек в лабиринте на четвертый день тестирования. Данные представлены в виде среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего. «Контроль» – животные без пренатального воздействия, «ПА» – пренатально алкоголизированные животные. N(Контроль + N₂) = 19(11♂ + 8♀); N(Контроль + Ar) = 18(9♂ + 9♀); N(ПА + N₂) = 15(6♂ + 9♀); N(ПА + Ar) = 18(8♂ + 10♀). Статистическая значимость влияний факторов или межгрупповых различий: ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

тревожности животных. С другой стороны, экспериментальные группы не различались по времени, проведенному на светлых рукавах лабиринта. Кроме того, у пренатально алкоголизированных животных было показано снижение количества вертикальных стоек без опоры внутри темного отсека, что является признаком подавленной ориентировочно-исследовательской активности. Таким образом, в нашей серии опытов пренатальная алкоголизация не привела к росту тревожности, но увеличила эмоциональную ригидность (упомянутое выше усиление груминга) и снизила активность исследовательского поведения.

В тесте «СПЛ» пренатальная алкоголизация привела к тому, что количество ошибок не снижалось при сравнении 1-х и 4-х сут обучения. Ингаляции аргоном делали такое снижение достоверным, как и в контрольных подгруппах.

Интересно, что при этом аргон воздействовал на время реакции и количество стоек вне зависимости от фактора «Модель»: после серии ингаляций в раннем постнатальном периоде животные быстрее находили подкрепление и совершали меньше стоек в четвертый день обучения. Стойки в данном тесте являются показателем менее качественного формирования навыка. Животные используют стойки для поиска внешних ориентиров за границами лабиринта для определения правильного маршрута до пищевого подкрепления. Таким образом, у крыс, которые в раннем постнатальном периоде с 6-х по 15-е ПНС подвергались воздействию аргона, оказались улучшены способности к формированию пищедобывательного навыка, в том числе в случае пренатальной алкоголизации.

Заключение

Полученные в нашем исследовании данные демонстрируют эффекты влияния пренатальной алкоголизации (ПА) на поведение крыс. Результаты оценки развития вестибуло-моторных и ориентировочных реакций в раннем онтогенезе согласуются с клиническими данными [15]. У детей с фетальным алкогольным синдромом (ФАС) не-

редко наблюдаются нарушения баланса и координации движений. При этом, в отличие от ряда предыдущих исследований, мы не выявили однозначного изменения эмоционального статуса у животных с ПА: несмотря на высокую выраженность смещенной активности (груминг), они не проявляли признаков увеличения тревожности. Полученные результаты позволяют сделать вывод об угнетении ориентировочно-исследовательской активности (тесты «ОП» и «ПКЛ») и способности к обучению (тест «СПЛ») у ПА животных, что согласуется с литературными данными.

Нами впервые обнаружено позитивное действие ингаляций аргонсодержащей смесью на способность белых крыс к обучению. Предшествующие исследования аргона *in vivo* в основном акцентировали внимание на неврологических проявлениях как части широкого спектра поведенческих реакций. Также нейропротективные свойства аргона *in vivo* ранее не были показаны на моделях пренатального повреждающего воздействия. В нашем исследовании аргон в некоторой степени корректировал нарушенную способность к обучению у животных, подвергнутых пренатальной алкогольной интоксикации. Таким образом, аргон можно рассматривать в качестве средства терапии расстройств, обусловленных пренатально вызванными дисфункциями центральной нервной системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ИнертГаз Медикал» в рамках договора №1-20/05 от 10.02.2020 о научно-практическом сотрудничестве между биологическим факультетом МГУ имени М.В. Ломоносова и ООО «ИнертГаз Медикал». Все эксперименты были проведены в соответствии с международными биоэтическими нормами (Директива Европейского Сообщества от 24 ноября 1986 г. — 86/609/ЕЕС) и одобрены комиссией Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по биоэтике (протокол № 107-д, 19.02.2019). Раскрытие конфликта интересов: авторы И.А.К., П.Д.П., А.В.Л и С.В.П. получают заработную плату в ООО «ИнертГаз Медикал».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Loetscher P.D., Rossaint J., Rossaint R., Weis J., Fries M., Fahlenkamp A., Ryang Y.M., Grottko O., Coburn M. Argon: neuroprotection in *in vitro* models of cerebral ischemia and traumatic brain injury. *Crit care*. 2009;13(6):R206.
2. Ryang Y.M., Fahlenkamp A.V., Rossaint R., Wesp D., Loetscher P.D., Beyer C., Coburn M. Neuroprotective effects of argon in an *in vivo* model of transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Crit. Care Med*. 2011;39(6):1448–1453.
3. Scheid S., Lejarre A., Wollborn J., Buerkle H., Gobel U., Ulbrich F. Argon preconditioning protects neuronal cells with a Toll-like receptor-mediated effect. *Neural Regen. Res*. 2023;18(6):1371–1377.

4. Айрапетов М.И., Ереско С.О., Игнатова П.Д., Скабелкин Д.А., Михайлова А.А., Ганьшина Д.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Влияние рифампицина на экспрессию генов системы toll-подобных рецепторов в коре переднего отдела мозга крыс с пренатальным воздействием алкоголя. *Биомедицинская химия*. 2023;69(4):228–234.
5. Komada M., Hara N., Kawachi S., Kawachi K., Kagawa N., Nagao T., Ikeda Y. Mechanisms underlying neuro-inflammation and neurodevelopmental toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to ethanol. *Sci. Rep*. 2017;7(1):4934.

6. Montesinos J., Pascual M., Pla A., Maldonado C., Rodríguez-Arias M., Miñarro J., Guerri C. TLR4 elimination prevents synaptic and myelin alterations and long-term cognitive dysfunctions in adolescent mice with intermittent ethanol treatment. *Brain Behav. Immun.* 2015;45:233–244.
7. Pascual M., Balaño P., Aragón C.M., Guerri C. Cytokines and chemokines as biomarkers of ethanol-induced neuroinflammation and anxiety-related behavior: role of TLR4 and TLR2. *Neuropharmacology.* 2015;89:352–359.
8. Суханова Ю.А., Себенцова Е.А., Левицкая Н.Г. Острые и отсроченные эффекты перинатального гипоксического повреждения мозга у детей и в модельных экспериментах на грызунах. *Нейрохимия.* 2016;33(4):276–292.
9. Легонькова С.В., Пальчик А.Б., Софронова Г.И. Фетальный алкогольный синдром: клинические, нейрофизиологические, возрастные и этнические аспекты. *Наука о жизни и здоровье.* 2010;(1):51–53.
10. Altman J., Sudarshan K. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim. Behav.* 1975;23(4):896–920.
11. Chung D.D. Pinson M.R., Bhenderu L.S., Lai M.S., Patel R.A., Miranda R.C. Toxic and teratogenic effects of prenatal alcohol exposure on fetal development, adolescence, and adulthood. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(16):8785.
12. Балакина М.Е., Дегтярева Е.В., Некрасов М.С., Брус Т.В., Пюрвеев С.С. Воздействие раннего постнатального стресса на психоэмоциональное состояние и развитие склонности к чрезмерному употреблению высокоуглеводной пищи у крыс. *Российские биомедицинские исследования.* 2021;6(2):27–37.
13. Груздева Т.С., Инюшкин А.Н. Влияние воздействия алкоголем в пренатальном периоде на поведение крыс. [Электронный ресурс]. 2021. URL: <http://repo.ssau.ru/handle/Aktualnye-voprosy-sovremennoi-nauki/Vliyanie-vozdeistviya-alkogolem-v-prenatalnom-periodena-povedenie-krys-Tekst-elektronnyi-87805> (дата обращения: 16.03.2023).
14. Ясенявская А.Л., Сергалиева М.У., Сомотруева М.А., Мажитова М.В. Экспериментальное подтверждение формирования состояния повышенной тревожности в условиях информационного воздействия. *Астраханский медицинский журнал.* 2016;11(2):92–98.
15. Church M.W., Abel E.L. Fetal alcohol syndrome: Hearing, speech, language, and vestibular disorders. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 1998;25(1):85–97.

Поступила в редакцию 14.07.2024

После доработки 25.02.2025

Принята в печать 26.03.2025

RESEARCH ARTICLE

Behavioral effect of argon inhalations in a rat model of prenatal alcohol exposure

I.A. Kabiolskiy^{1, 2, *} , P.D. Panasenkov², A.V. Loboda², S.V. Potapov²,
N.Y. Sarycheva¹, V.A. Dubynin¹

¹ Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

² LLC “InertGas Medical,” 7 Nobelya Street, Moscow, 143005, Russia

*e-mail: ilyakab1999@gmail.com

Alcohol consumption during pregnancy can disrupt fetal development and increases the risk of having a child with neurological and cognitive impairments. In this regard, finding ways to correct disorders caused by prenatal exposure to ethanol is relevant. In this study, we assessed the acute and delayed effects of repeated inhalations of an argon-containing mixture (74% Ar, 21% O₂, 5% N₂) in comparison with artificial air (79% N₂, 21% O₂) on the behavior of white rats in a model of prenatal alcohol intoxication. Inhalations were carried out in the early postnatal period from 6 to 15 postnatal days. In offspring exposed to prenatal alcohol intoxication, there was a decrease in the quality of development of vestibulo-motor reflexes (6th postnatal day), as well as suppression of orienting-exploratory behavior, which was shown both at early postnatal age (in 4th and 5th postnatal days), and at later stages (21st, 25th postnatal days). In prenatally alcoholized animals, an increase in the rigidity and repetitiveness of behavior in the form of grooming was noted. Prenatal exposure to alcohol led to cognitive impairment, which was reflected in a deterioration in the quality of formation of food acquisition skills in the “complex food maze.” In turn, argon inhalation made it possible to correct learning disabilities in this test. The effect of inhalation of an argon-containing mixture on other parameters of the studied behavior was not found.

Keywords: argon, prenatal alcohol intoxication, behavior, motor reflexes, learning, rats

Funding: The work was carried out with the financial support of LLC “InertGas Medical” within the framework of agreement No. 1-20/05 dated February 10, 2020 on scientific and practical cooperation between the Faculty of Biology of Lomonosov Moscow State University and LLC InertGas Medical.

Сведения об авторах

Кабиольский Илья Алексеевич — аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-33-55; e-mail: ilyakab1999@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2924-5851>

Панасенков Павел Дмитриевич — инженер-конструктор отдела производства медицинской техники ООО «ИнертГаз Медикал». Тел.: 8-495-123-45-91, e-mail: info@ingasgroup.ru

Лобода Антон Васильевич — врач-анестезиолог и реаниматолог, врач общей практики, медицинский директор ООО «ИнертГаз Медикал». Тел.: 8-495-123-45-91, e-mail: info@ingasgroup.ru

Потапов Сергей Владимирович — канд. техн. наук, генеральный директор ООО «ИнертГаз Медикал». Тел.: 8-495-123-45-91, e-mail: s.potapov@ingasgroup.ru

Сарычева Наталия Юрьевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-33-55; e-mail: nsarycheva.bio@yandex.ru

Дубынин Вячеслав Альбертович — докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-28-95; e-mail: dva-msu@yandex.ru