

# Влияние пропофола на гиппокамп развивающегося мозга

М.А. Лобов, А.А. Древаль, А.М. Овезов, М.В. Пантелева, Н.Р. Пашина, А.В. Князев, М.Н. Борисова, А.В. Луговой

ГБОУ ВПО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, кафедра гистологии;  
ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (Москва)

*Проблема нейротоксичности анестетиков и церебральной нейропротекции во время оперативных вмешательств является одной из наиболее значимых в современной анестезиологии. Установлено, что общая анестезия наряду с основным гипнотическим действием обладает рядом негативных эффектов и часто вызывают развитие послеоперационной когнитивной дисфункции, как проявление энцефалопатии. Наркоз на основе пропофола рассматривается как «золотой стандарт» тотальной внутривенной анестезии и часто используется при операциях у больных различного возраста. Проведено экспериментальное исследование влияния внутрибрюшинного введения пропофола на нейрональную популяцию гиппокампа неполовозрелых крыс. Установлено, что при 30-минутной экспозиции пропофол оказывает негативное действие на нейроны гиппокампа, вызывая почти 2-кратное увеличение количества измененных клеток по сравнению с нормой, однако необратимых изменений (гибели) нейронов не наблюдается. Введение в периоперационном периоде этилметилгидроксипиридина сукцината нивелирует структурные изменения нейронов, что подтверждает нейропротективный эффект препарата.*

**Ключевые слова:** пропофол, гиппокамп, нейрональная популяция, интраоперационная церебропротекция, этилметилгидроксипиридина сукцинат

## Введение

Ингаляционные и внутривенные анестетики уже более 160 лет применяются для обеспечения общего обезболивания при оперативных вмешательствах и выполнения различных диагностических процедур. Первые предположения о негативном влиянии наркоза на нейронные популяции в головном мозге и когнитивные функции появились еще более двух десятилетий назад, когда были получены данные о способности кетамина вызывать нейрональную дегенерацию у детенышей крыс [25]. На сегодняшний день имеются убедительные доказательства того, что широко применяемые внутривенные и ингаляционные анестетики, как по отдельности, так и в комбинациях, у различных видов животных, включая приматов, могут вызывать в развивающемся мозге значительную апоптотическую нейродегенерацию, причем само воздействие носит строго возрастной и отчасти дозозависимый характер [11, 12, 17, 18, 21, 26]. Данные, накопленные в ходе проведенных крупномасштабных ретро- и проспективных клинических исследований, свидетельствуют о негативном влиянии наркоза на поведенческие и когнитивные функции у пациентов различного возраста [13, 14, 16, 20]. Совокупность факторов операционно-анестезиологического стресса, интраоперационные осложнения, сопутствующая патология, исходное состояние когнитивных функций, возраст пациента и ряд других факторов могут обуславливать возникновение интра- и послеоперационных церебральных осложнений. Постоперационная энцефалопатия клинически может проявляться делирием, астенией, аффективными расстройствами (дисфория, тревога) и, наиболее часто, послеоперационной когнитивной дисфункцией [1, 5, 7, 8, 23, 24].

Наиболее используемым до настоящего времени методом общего обезболивания остается тотальная внутривенная анестезия (ТВА). ТВА на основе пропофола и фентанила рассматривается как «золотой стандарт». Пропофол –

ингаляционное средство для наркоза, характеризуется быстрым и кратковременным действием, обеспечивает блокирование поступления информации в кору головного мозга за счет угнетения ретикулярной активирующей системы и имитирует ингибирующие эффекты гамма-аминомасляной кислоты.

Наши собственные исследования показали, что при ТВА на основе пропофола в периоперационном периоде развивается синдром «ишемии–реперфузии» мозга, двухволновая активация свободнорадикального процесса как проявление окислительного стресса в ранние сроки после операции, ускорение генетически детерминированного апоптоза, подтвержденное иммунологическими данными, что можно рассматривать в качестве вероятного патогенетического фактора развития постоперационной энцефалопатии, проявляющейся когнитивным дефицитом [2–4]. ПОКД развивается по нашим данным (при анестезии средней продолжительности): у взрослых пациентов в 50% случаев, у детей – в 62% в первые сутки после операции и у 30–40% через месяц, что подтверждает особую чувствительность развивающегося мозга к побочному влиянию наркоза, в частности, ТВА на основе пропофола [5, 6, 15], и необходимость проведения нейропротективной терапии в периоперационном периоде.

**Целью** нашего исследования явилась оценка влияния тотальной внутрибрюшинной анестезии на нейронную популяцию гиппокампа неполовозрелых крыс и нейропротективного потенциала этилметилгидроксипиридина сукцината (препарат «Мексидол»).

## Материалы и методы

Исследование проводили на самцах беспородных неполовозрелых крыс массой 60 г, которые содержались на стандартном рационе с соблюдением Хельсинкского постановления по обращению человека с лабораторными

животными. Животные рандомизированы на 5 групп (1 контрольная и 4 опытных) по 5 крыс в каждой. Всем опытным группам проводили тотальную внутрибрюшинную анестезию пропофолом в дозе 20 мг/кг, продолжительность наркоза – 30 мин. Животные 1-й группы получали только пропофол, 2-й – этилметилгидроксипиридина сукцинат внутримышечно в дозе 150 мг/кг 2-кратно: за 1 сутки и за 30 минут до анестезии. Крысам 3-й группы вводили этилметилгидроксипиридина сукцинат внутримышечно в дозе 150 мг/кг 2-кратно: за 1 сутки и за 30 минут до анестезии, затем однократно в дозе 150 мг/кг в течение 3 суток. Крысам 4-й группы этилметилгидроксипиридина сукцинат вводили внутримышечно в дозе 150 мг/кг по завершении анестезии, затем однократно в дозе 150 мг/кг в течение 3 суток.

Материал для исследований от животных всех групп брали на 3-е сутки после проведения анестезии. Животных умерщвляли, извлекали головной мозг, выделяли соответствующую зону гиппокампа, кусочки мозга фиксировали в 10% нейтральном формалине и затем по стандартной прописи обрабатывали материал и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 6–8 мкм и монтировали их на стекла, обработанные смесью яичного альбумина и глицерина. Срезы окрашивали по методу Ниссля и гематоксилином и эозином. Выбор объекта исследования обусловлен тем, что гиппокамп быстро и активно реагирует на медикаментозное воздействие по сравнению с другими зонами мозга и является одной из основных структур, используемых для скрининга биологически активных веществ.

На препаратах, окрашенных по Ниссля, проводили количественную оценку степени морфологических изменений нейронов пирамидного слоя гиппокампа в полях CA1 (подполя а, в, с), CA2, CA3 (подполя а, в, с), CA4 во всех группах животных. Для этого использовали метод, разработанный А.В. Свищевым для количественной оценки состояния нейронов в органах ЦНС [6], согласно которому составляли таблицу и применяли специальную формулу. Степень морфологических изменений формации ЦНС определяли по формуле:

$$СИ = \frac{(2б+3в+4г+5д+5е+6ж+6з) * 100\%}{а+2б+3в+4г+5д+5е+6ж+6з}$$

где СИ — степень изменений состояния нейронов; а, б, в ... з — количество нейронов соответствующих групп

таблица 1: Общая характеристика обследованных больных.

Название группы (состояние нейронов)	Группа	Оценка состояния	Количество нейронов
Нормальный нейрон	I	1	а
Начальные явления набухания и тигролиза	II	2	б
Выраженные явления набухания и тигролиза	III	3	в
Набухший нейрон с гиперхроматозом	IV	4	г
Дегидратированный гиперхромный нейрон	V	5	д
Вакуолизованный нейрон	VI	5	е
Атрофичный нейрон	VII	6	ж
*Погибший нейрон		6	з

Примечание. \*Таких нейронов обнаружено не было, поэтому эта группа в подсчеты не вошла.

(табл. 1). Подсчет производили в 5 полях зрения 1 серийного среза при увеличении 10х10 и выражали в процентах. Полученные результаты морфологических изменений статистически обработаны с использованием параметрического критерия Стьюдента.

Препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для определения общей численности популяции нейронов и количества погибших нейронов с помощью метода компьютерного морфометрического анализа.

## Результаты

В контрольной группе основная часть популяции нейронов пирамидного слоя гиппокампа представлена неизменными структурами. Интенсивность окрашивания ядра и компонентов базофильной субстанции свидетельствовала об активном функциональном состоянии большинства клеток, что характерно для развивающегося мозга (рис. 1). Наряду с сохраненными выявлялись и измененные нейроны, состояние которых соответствовало группам II–V (табл. 1). Количество мелких гиперхромных нейронов (группа V) в среднем составляло от 4 до 6%, чаще всего они встречались в поле CA3 — около 10%, в полях CA1, CA2, CA4 — 2–3%. Общее количество измененных клеток в среднем составляло 18% всей нейронной популяции.

В 1-й группе общее количество измененных нейронов во всех полях зрения в 2 раза превышало норму. Выявленные

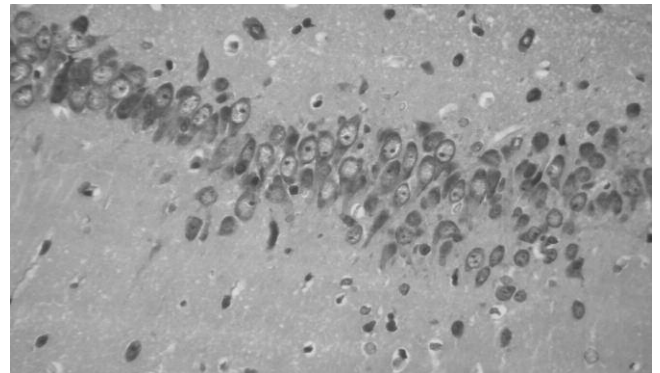


рис. 1: Группа сравнения. Нормальные нейроны (здесь и далее окраска по Ниссля).

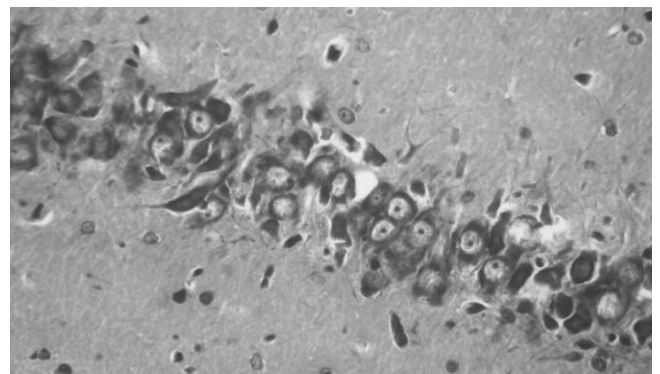


рис. 2: Группа 1. Наряду с нормальными нейронами обнаруживаются клетки с резко гиперхромной цитоплазмой. Гиперхромные нейроны с эктопией ядра и ядрышек.

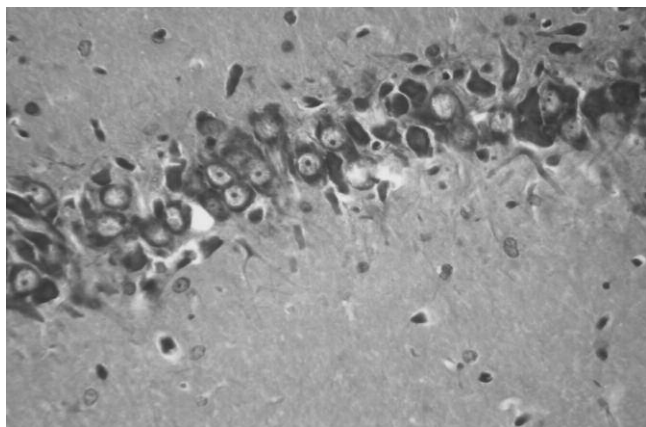


рис. 3: Группа 1. Гиперхромия нейронов с эктопией ядра, явления тяжелого хроматолиза (набухание тел нейронов, просветление цитоплазмы, эктопия ядер и ядрышек).

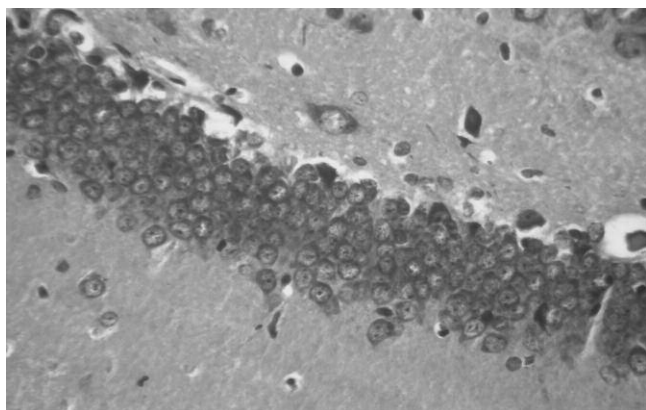


рис. 4: Группа 2 (Мексидол в/м в дозе 150 мкг/кг 2-хкратно: за сутки и 30 мин до анестезии). Нейронная популяция в целом близка к норме. Выявляются единичные клетки с явлениями хроматолиза и гиперхроматоза.

признаки нарушения их структуры соответствовали состояниям, указанным для групп I–VI (табл. 1). При этом в большинстве измененных клеток (58%) обнаружались начальные явления набухания и хроматолиза (группа II), 18% находились в состоянии, соответствующем группе IV, 21% – в состоянии, соответствующем группе III. Единичные нейроны имели резко вакуолизированную цитоплазму (группа VI) (рис. 2, 3).

Во 2-й группе нейронная популяция в целом была близка к норме. При этом выявлялись малочисленные гиперхромные клетки (не более 12%, группа V (табл. 1). Около 28% составляли клетки с начальными явлениями набуханиями (группа IV) (рис. 4).

В 3-й группе нейронная популяция также приближалась к норме. Гиперхромные нейроны составляли не более 10%, нейроны группы II – не более 30% от общего числа измененных клеток (рис. 5).

В 4-й группе состояние большинства измененных нейронов соответствовало группам II–V (табл. 1), встречались гиперхромные клетки со сморщенным перикарионом (рис. 6).

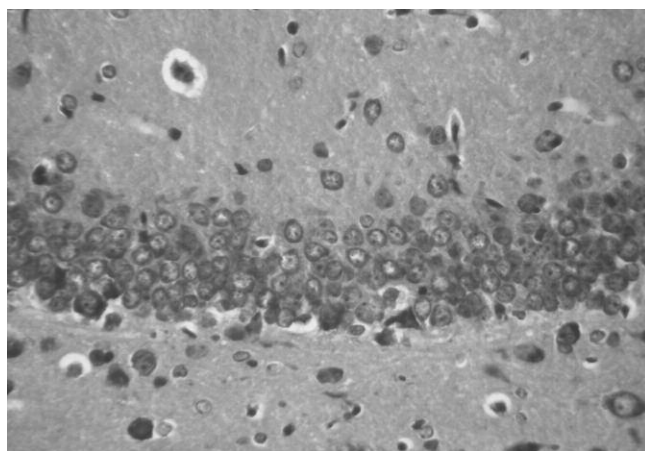


рис. 5: Группа 3 (Мексидол в/м в дозе 150 мкг/кг 2-хкратно: за сутки и 30 мин до анестезии, далее – однократно в дозе 150 мкг/кг 3 сут). Нейронная популяция в целом близка к норме. Выявляются единичные клетки с явлениями хроматолиза и гиперхроматоза.

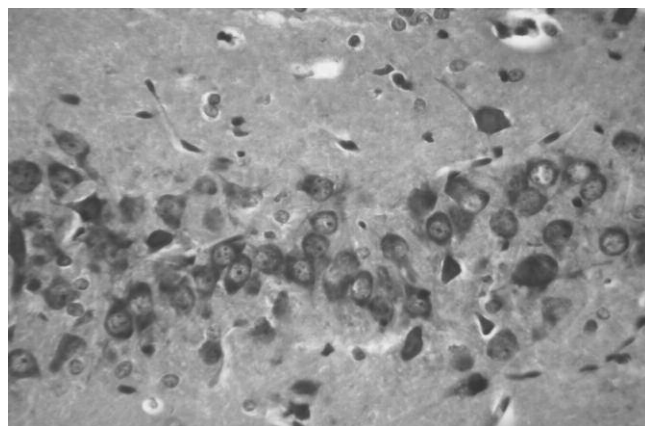


рис. 6: Группа 4 (Мексидол в/м в дозе 150 мкг/кг по завершении анестезии, далее – однократно в дозе 150 мкг/кг 3 сут). Нейронная популяция в целом близка к норме, выявляются одиночные гиперхромные нейроны со сморщенной сомой.

Таким образом, в нейронной популяции гиппокампа группы контроля и опытных группах животных грубых изменений и погибших нейронов не выявлено. Обнаруженные изменения имели, по-видимому, обратимый характер.

Результаты статистического анализа количества измененных нейронов гиппокампа для разных экспериментальных групп представлены на рис. 7. После наркоза достоверно (более чем в 2 раза) возрастает количество измененных нейронов гиппокампа. По данным компьютерной морфометрии, проводимой на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, общая численность нейронной популяции во всех экспериментальных группах достоверно не различается, что совпадает с результатами, полученными на препаратах, окрашенных по Нисслю, при исследовании различных полей гиппокампа: CA1, CA2, CA3, CA4.

Введение этилметилгидроксипиридина сукцината в перинаркозное период приводило к достоверному и существенному снижению среднего количества измененных



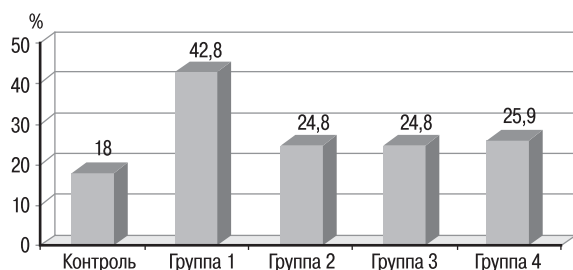


рис. 7. Относительное количество измененных нейронов гиппокампа в норме и в эксперименте.

\* $p < 0,001$  по сравнению с контролем, +  $p < 0,01$  по сравнению с 1-й группой.

нейронов во 2-й, 3-й и 4-й группах по сравнению с 1-й группой. При сравнении результатов между подгруппами с различными схемами введения препарата, лучшие результаты получены во 2-й и 3-й группах по сравнению с 4-й.

## Обсуждение

Результаты многочисленных экспериментальных исследований показали, что головной мозг максимально уязвим для нейротоксического воздействия анестетиков в период пика синаптогенеза. Так, наркоз-индуцированная апоптотическая нейродегенерация выявлялась только у 7-дневных особей (момент пика синаптогенеза для крыс), тогда как у 14-дневных детенышей признаков нейродегенерации обнаружено не было [11, 12]. В нашем исследовании при 30 минутной экспозиции анестетика необратимых изменений (гибели) нейронов также не наблюдалось, однако, несмотря на это, количество структурно измененных нейронов после анестезии возрастало в 2 раза, что может указывать на негативное влияние наркоза на головной мозг даже в критического периода его развития. Экстраполируя данные экспериментальных работ на человеческую популя-

цию, ряд авторов предполагает, что период максимальной уязвимости мозга ограничен первыми двумя годами жизни ребенка [9, 14, 22]. Наши предыдущие работы показали однако наличие послеоперационного когнитивного дефицита у детей старшего возраста, оперированных в условиях минимальной хирургической и анестезиологической агрессии [2, 3, 15]. Вероятно, в этом случае негативный эффект общей анестезии реализуется главным образом за счет нарушения нейротрансмиттерной передачи и ряда других [10, 19]. В настоящем исследовании мы предприняли попытку церебральной медикаментозной протекции путем использования различных режимов ведения этилметилгидроксипиридина сукцината («Мексидол») — отечественного препарата, обладающего антиоксидантным и нейропротективным действием. Результаты, полученные в группах 2, 3 и 4, показали, что разброс данных по числу измененных и неизмененных нейронов в 3 группе животных меньше, чем во 2-й, и практически совпадает с показателями в группе сравнения, что свидетельствует о целесообразности введения препарата в течение всего периоперационного периода.

Результаты нашего исследования свидетельствует, таким образом, о нейротоксическом влиянии тотальной внутрибрюшной анестезии на основе пропофола на нейроны гиппокампа у неполовозрелых особей крыс. Изучение негативного воздействия пропофола на головной мозг, когнитивные и поведенческие функции в детской популяции требует проведения крупных долгосрочных популяционных исследований. Фармакологическая защита мозга препаратами нейропротективного ряда целесообразна как на интраоперационном этапе, так и в пред- и послеоперационном периодах. На основании предварительно полученных данных изучения нейропротективной активности этилметилгидроксипиридина сукцината, его применение в течение всего периоперационного периода представляется оправданным, однако требующим подтверждения в контролируемых клинических исследованиях.

## Список литературы

1. *Большедворов Р.В., Кичин В.В., Федоров С.А., Лихванцев В.В.* Эпидемиология послеоперационных когнитивных расстройств. — Анестезиология и реаниматология 2009; 3: 20–24.
2. *Князев А.В.* Церебральные и метаболические нарушения при оперативных вмешательствах под общим обезболиванием у детей. — Автореф. дисс. канд. мед. наук Москва, 2006.
3. *Лобов М.А., Болевич С.Б., Дубовая Т.К. и др.* К вопросу о необходимости нейропротекции при тотальной внутривенной анестезии у детей Журн. Эфферентная терапия 2009; 15: 120–122.
4. *Лобов М.А., Овезов А.М., Пантелеева М.В. и др.* Патолофизиологические и морфологические основы церебропротекции в периоперационном периоде. Сборник материалов научно-практической конференции «Современные аспекты лечения заболеваний нервной системы», Тверь, 2010: 28–34.
5. *Овезов А.М., Лобов М.А., Луговой А.В. и др.* Ранняя послеоперационная дисфункция у детей: диагностика, методы коррекции. Материалы науч.-практ. конф. для врачей-неврологов «Актуальные проблемы практической неврологии». Калуга, 2012: 111–116.
6. *Овезов А.М., Лобов М.А., Пантелеева М.В. и др.* Коррекция ранних когнитивных нарушений у детей школьного возраста, опери-

рованных в условиях тотальной внутривенной анестезии. Журн. Анестезиология и реаниматология 2012; 3: 25–29.

7. *Федоров С.А., Большедворов Р.В., Лихванцев В.В.* Причины ранних расстройств психики больного после операций, выполненных в условиях общей анестезии. Вест. инт. терапии 2007; 4: 17–25.

8. *Burkhardt C.S. et al.* Can postoperative cognitive dysfunction be avoided? Hosp pract (Minneap). 2012; 40 (1): 214–223.

9. *Creeley C.E., Olney J.W.* The young: neuroapoptosis induced by anesthetics and what to do about it. Anesth Analg 2010; 110: 442–448.

10. *Ikonomidou C., Bosch F., Miksa M. et al.* Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. Science 1999; 283: 70–74.

11. *Istaphanous K., Loepke A.W.* General anesthetics and the developing brain. Curr Opin Anaesthesiol 2009; 22: 368–373.

12. *Jevtovic-Todorovic V., Hartman R.E., Izumi Y. et al.* Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. J. Neurosci 2003; 23: 876–882.

13. *Johnson T., Monk T., Rasmussen L.S. et al.* Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients. Anesthesiology 2002; 96: 1351–1357.

14. Kalkman C.J., Peelen L., Moons K.G. et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure. *Anesthesiology* 2009; 110: 805–812.
15. Lobov M., Knyazev A., Ovezov A. et al. Perioperative prevention of early cognitive dysfunction in children. *Intensive Care Medicine* 2010; 36 (Suppl. 2): 276.
16. Moller J.T., Cluitmans P., Rasmussen L.S. et al. Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. *International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction*. *Lancet* 1998; 351: 857–861.
17. Nikizad H., Yon J.-H., Carter L.B., Jevtic-Todorovic V. Early exposure to general anesthesia causes significant neuronal deletion in the developing rat brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Dec; 1122: 69–82.
18. Perouansky M., Hemmings H.C. Neurotoxicity of general anesthetics. *Anesthesiology* 2009; 111: 1365–1371.
19. Pratico C., Quattrone D., Lucanto T. et al. Drugs of anesthesia acting on central cholinergic system may cause post-operative cognitive dysfunction and delirium. *Med Hypotheses*. 2005; 65 (5): 972–982.
20. Rasmussen L.S., Larsen K., Houx P. et al. ISPOCD group. The assessment of postoperative cognitive function. *Acta Anaesth Scand* 2001; 45: 275–289.
21. Stratmann G. Neurotoxicity of anesthetic drugs in the developing brain. *Anesth Analg*. 2011; 113 (5): 1170–1179.
22. Sun L. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development *British Journal of Anaesthesia* 2010; 105 (S1): i61–i68.
23. Terri G., Monk B., Graig W. et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *Anesteology* 2008; 108: 18–30.
24. Thomas J., Crosby G., Drummond J.C. et al. Anesthetic neurotoxicity: a difficult dragon to slay. *Anesth Analg* 2011; 113: 5: 969–971.
25. Uemura E., Bowman R.E. Effects of halothane on cerebral synaptic density. *Exp Neurol* 1980; 69: 135–142.
26. Zou X., Patterson T.A., Divine R.L. et al. Prolonged exposure to ketamine increases neurodegeneration in the developing monkey brain. *Int J Dev Neurosci* 2009; 27: 727–731.

## Influence of propofol on hippocampus in developing brain: an experimental study

M.A. Lobov, A.A. Dreval, A.M. Ovezov, M.V. Panteleeva, N.R. Pashina, A.V. Knyazev, M.N. Borisova, A.V. Lugovoy

*Moscow Regional Scientific Research and Clinical Institute;  
Russian Scientific Research Medical University (Moscow)*

**Key words:** propofol, hippocampus, neuronal population, intraoperative cerebroprotection, ethylmethylhydroxypyridine succinate

Anesthetic neurotoxicity and intraoperative cerebral neuroprotection is one of the important issues in modern anesthesiology. General anesthesia, in addition to its hypnotic effect, is considered to cause postoperative cognitive dysfunction as a manifestation of encephalopathy. Narcosis based on propofol is a “gold standard” of total intravenous anesthesia and is frequently used for surgery in patients of various ages. This experimental study investigates the

effects of propofol on neuronal population in hippocampus of immature rats. In propofol-anesthetized rats within 30 min of exposition, a two-fold increase of altered hippocampal neurons was detected compared to control animals, however no neuronal cell death was observed. Intraoperative use of ethylmethylhydroxypyridine succinate ameliorates propofol-induced neuronal damage that proves a neuroprotective effect of the drug tested.

**Контактный адрес:** Лобов Михаил Александрович – докт. мед. наук, проф., рук. отд. детской неврологии ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2 корпус № 10, отделение детской неврологии. Тел.: +7 (495) 631-72-57; e-mail: lobovma@mail.ru;

Древаль А.А. – доц. каф. гистологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

Оvezov A.M. – рук. отд. анестезиологии ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского;

Пантелеева М.В. – науч. сотр. отд. детской неврологии ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского;

Пашина Н.Р. – асс. каф. гистологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

Борисова М.Н. – старш. науч. сотр. отд. детской неврологии ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского;

Луговой А.В. – мл. науч. сотр. отд. анестезиологии ГБУЗ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.