

УДК 616 - 091.82+615.211 - 615.015.35

Г.І.Губіна-Вакулік<sup>1</sup>, У.А.Фесенко<sup>1</sup>, В.С.Фесенко<sup>2</sup>**ВПЛИВ НЕІНГАЛЯЦІЙНИХ ЗАГАЛЬНИХ АНЕСТЕТИКІВ НА НЕЙРОНИ КОРИ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ**<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет; <sup>2</sup>Харківська медична академія післядипломної освіти

Наведено результати експериментального дослідження нейротоксичної дії загальних неінгаляційних анестетиків на кортикальні нейрони у щурів. Доведено захисну дію пірацетаму та відсутність церебропротекції сульфату магнію на тлі загальної анестезії.

*Ключові слова:* загальні анестетики, нейротоксичність, апоптоз, каспаза-3, пірацетам, сульфат магнію.

На сторінках анестезіологічних видань останнім часом обговорюються питання нейротоксичності загальних анестетиків, особливо в періоди синаптогенезу [19, 26]. Думки різних авторів щодо залежності такої дії від дози анестетика та прийнятності екстраполяції на людину результатів експериментів на тваринах різняться [15, 21, 24, 25, 29, 36]. Нейротоксичну дію загальних анестетиків вважають однією з можливих причин післяопераційних когнітивних дисфункцій [11, 13]. Деякі дослідження доводять зв'язок між токсичною дією анестетиків на головний мозок та раннім розвитком дегенеративних захворювань, наприклад, хвороби Альцгеймера [17]. Стан проблеми нейротоксичної дії компонентів наркозу на сьогодні найкращим чином характеризує вислів С. DiMaggio: «Суддів усе ще немає, насправді, судді навіть не пішли на обговорення» [16]. Досить ретельно вивчена ця проблема для тварин раннього віку, до закінчення синаптогенезу. Проте в літературі мало даних про нейротоксичні ефекти загальних анестетиків у молодих тварин із завершеним синаптогенезом. У нашій клініці останніми роками щорічно дітям проводять від 5500 до 6000 загальних анестезій, 85% з яких становлять наркози на основі внутрішньовенних анестетиків та їхніх комбінацій [8]. Тому ми провели експериментальне дослідження нейротоксичної дії поширених у вітчизняній дитячій анестезіології неінгаляційних загальних анестетиків в анестетичних дозах на тварин у віці, аналогічному шкільному вікові у дітей. Незважаючи на велику кількість препаратів, які діють на когнітивну сферу, вибір лікарських засобів для церебропротекції від нейротоксичної дії загальних анестетиків у дітей досить обмежений. По-перше, більшість цих препаратів не дозволено застосовувати у дітей, переважно через недостатній досвід. По-друге, патофізіологічні механізми, які лежать в основі порушень когнітивних функцій при ушкодженнях головного мозку (травматичних, ішемічних, гіпоксичних, дегенеративних) та після дії загальних анестетиків, дуже відрізняються. При травматичних ушкодженнях головного мозку превалює загибель клітин шляхом некрозу, опосередкованого активацією глутаматного каскаду, ексайтотоксичністю.

Нейротоксична дія загальних анестетиків реалізується шляхом активації апоптозу – запрограмованої загибелі нейронів. Тому пошук церебропротекторів у цьому випадку слід проводити серед препаратів ноотропної групи, які покращують здатність нейронів до компенсації втрачених функцій.

**Мета роботи** – дослідження впливу неінгаляційних анестетиків на нейрони кори великих півкуль головного мозку щурів та оцінка захисних властивостей пірацетаму та сульфату магнію від нейротоксичної дії анестетиків.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Експериментальні дослідження проведено на 111 двомісячних щурах обох статей лінії Wistar Albino Glaxo на базі експериментально-біологічної клініки Харківського національного медичного університету (ХНМУ). Середня маса тіла щурів становила (67,8 ± 5,35) г. Експериментальні дослідження виконано згідно з рекомендаціями з утримання та використання лабораторних тварин, а також з дотриманням правил гуманного поводження з тваринами. При виконанні експерименту дотримувалися норм Страсбурзької конвенції Гельсінкської угоди [7]. Дослідження проводили під наглядом локального Комітету з питань етики та біоетики ХНМУ.

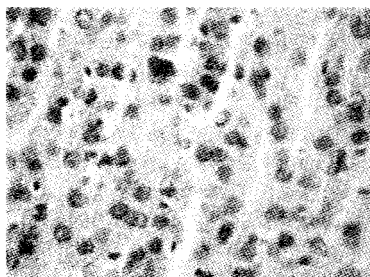
**Протоколи експериментів.** Попередньо проводили підбір доз анестетиків шляхом поступового їх підвищення. Підбирали таку дозу анестетика, яка забезпечувала наркотичний сон у щурів упродовж 40 хв без пригнічення дихання та гемодинаміки. Церебропротектори (пірацетам або сульфат магнію) вводили тваринам у стані наркотичного сну через 30 хв після введення анестетика. Препарати вводили інтраперитонеально в таких дозах: кетамін – 0,1 мг/г, тіопентал – 0,1 мг/г, пропофол – 0,1 мг/г, оксibuтират натрію (гама-оксимасляна кислота – ГОМК) – 0,5 мг/г, пірацетам – 2 мг/г, сульфат магнію – 2,5 мг/г, фізіологічний розчин (NaCl 0,9%) – 1 мл. Таким чином, сформовано 5 серій експериментальних тварин: контрольна серія з уведенням фізіологічного розчину (група Ф), пірацетаму (група ФП), сульфату магнію

(група ФМ); 4 основні серії: з уведенням кетаміну (групи К, КП, КМ), оксибутирату натрію (групи Г, ГП, ГМ), тіопенталу натрію (групи Т, ТП, ТМ) та пропофолу (групи П, ПП, ПМ). Тварин виводили з експерименту через 1 год після введення препаратів шляхом декапітації. Головний мозок вилучали та занурювали у 10% розчин формаліну.

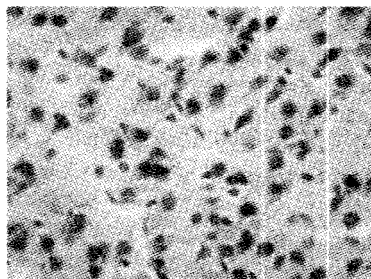
**Протоколи виготовлення препаратів головного мозку.** Після фіксації мозок промивали, обробляли спиртом для зневоднення, потім заливали парафіном. Робили серії сагітальних зрізів товщиною 7–8 мкм, які фарбували 1% метиленовим синім та галоціаніном за Ейнарсоном для виявлення сумарних нуклеїнових кислот [4]. Також робили зрізи для імуногістохімічного дослідження.

**Гістологічні та морфометричні методи.** Мікропрепарати головного мозку досліджували при 100-кратному та 400-кратному збільшенні за допомогою світлового мікроскопа «AXIOSTAR Plus» (Zeiss, ФРН) з фотокамерою «ProgRes C10plus». Фотографували ділянку гангліонарних нейронів кори тім'яної частки великої півкулі головного мозку (lobus parietalis hemispherii cerebri). Використовуючи програмне забезпечення «ВидеоТест» (РФ), визначали кількість нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup> препарату, площу перерізу ядер, оптичну щільність ядер клітин при фарбуванні галоціаніном, вміст нуклеїнових кислот та плоідність ядер [1]. Для визначення плоідності ядер нейронів як еталон використовували диплоідні ядра гліальних клітин.

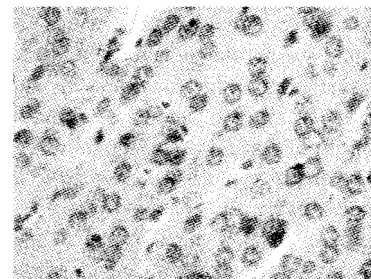
**Імуногістохімічні методи.** Для оцінки ступеня нейронального апоптозу використовували імуногістохімічну методику. Експресію ключового ферменту апоптозу – каспази-3 – визначали за допомогою первинних кроличових моноклональних антитіл ab32351 фірми «Abcam» (Велика Британія) та вторинних антитіл – флюоресціювальних імуноглобулінів, мічених флюоресцеїнізотіоціанатом (ФІТЦ) виробництва фірми «Медгамал» (РФ). Препарати досліджували для визначення інтенсивності люмінесцентного світіння під мікроскопом



**Рис. 1.** Гангліонарний шар кори тім'яної частки двомісячного щура після введення фізіологічного розчину. Ядра нейронів розташовані рівномірно щільно, нейропіль густий. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. x400



**Рис. 2.** Гангліонарний шар кори тім'яної частки двомісячного щура після введення пірацетаму. Ядра нейронів гіперхромні. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. x400



**Рис. 3.** Гангліонарний шар кори тім'яної частки двомісячного щура після введення сульфату магнію. Ядра нейронів розташовані рідко, мають великі, світлі ядра. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. x400

«Ахioskop 40» з фотокамерою «Pixer» (Zeiss, ФРН) з використанням методики морфологічної верифікації апоптозу [12].

Статистичну обробку отриманих морфометричних та імуногістохімічних даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel з використанням t-критерію Стьюдента. Значущість міжгрупової різниці оцінювали з використанням неспарованого двобічного критерію Стьюдента. За рівень значущості приймали  $p < 0,05$  [2, 5].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### *Гістологічна картина кори головного мозку*

У щурів групи Ф, яким уведено фізіологічний розчин, нейрони у досліджуваній ділянці кори розташовані рівномірно, щільно, мають овально-пірамідальну форму. Ядра чіткі, округлі, більшість ядер мають середній ступінь еухромності, деякі – високий. Хроматин розташований дрібними глибокими. Трапляються ядра, які розташовані дуже близько, навіть нашаровуються одне на одне, що може бути ознакою гіперплазії ядер нейрона, тобто є невелика кількість дво- та триядерних нейронів. Цитоплазма невеликого об'єму, з помірною кількістю РНК. Нейропіль густий, рівномірно дрібнопористий (рис. 1).

При введенні тваринам пірацетаму (група ФП), нейрони кори зберігаються, більшість з них мають гетерохромні ядра (рис. 2).

Введення сульфату магнію (група ФМ) спричиняє зменшення щільності розташування нейронів, що пояснюється загибеллю частини з них. Більшість нейронів мають великі світлі ядра (рис. 3).

Після введення кетаміну (група К) спостерігається помітне розрідження розташування нейронів кори. Ядра у більшості нейроцитів гетерохромні, у деяких – еухромні, великих розмірів. Збільшена кількість мікроглії. Нейропіль менш щільний, з більшими комірками (рис. 4).

При введенні пірацетаму додатково до кетаміну (група КП) розташування нейронів у корі є щільнішим, ніж у

групі К. Кількість клітин мікроглії дещо збільшена. Звертає увагу наявність близько розташованих ядер (по два-три ядра в групі), що можна прийняти за картину гіперплазії ядер нейронів кори у щурів «дитячого» віку (рис. 5).

Додаткове до кетаміну введення сульфату магнію (група КМ) спричиняє зменшення щільності розташування нейронів, які мають великі світлі ядра (рис. 6).

У зрізах тім'яної кори щурів, яким вводили ГОМК (група Г), відзначено велику кількість близько розташованих ядер (по два, три і навіть чотири ядра), що схоже на появу багатоядерних нейронів. Ядра більшості нейронів – світлі, з дрібними гранулами хроматину, кількість їх значно зменшена. Трапляються зморщені нейрони з пікнотичними ядрами. Багато мікрогліальних клітин. Нейропіль виглядає щільним, більш інтенсивно фарбується галоціаніном, ніж у групі Ф (рис. 7).

При додаванні до ГОМК пірацетаму (група ГП) феномен гіперплазії ядер нейронів менш виражений. На тлі нейронів зі світлими великими ядрами спостерігається частина невеликих нейронів з гіперхромними ядрами. Відзначено також наявність пікнотичних ядер, а також нейронів з феноменом маргінації хроматину та

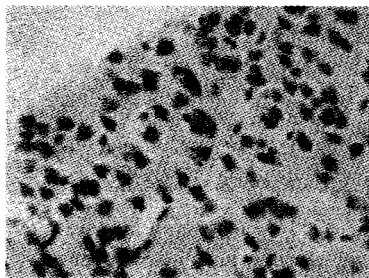
хроматолізом у центрі ядра. Нейропіль – світлий при фарбуванні за Ейнарсоном (рис. 8).

У зрізах головного мозку щурів групи ГМ (комбінація ГОМК із сульфатом магнію) спостерігали наявність значних ділянок кори без нейронів. Трапляються пікнотичні ядра з хроматолізом (рис. 9).

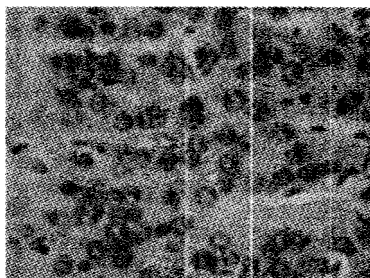
У препаратах кори головного мозку щурів, яким вводили тіопентал (група Т), спостерігали дифузне розташування нейронів зі світлими ядрами великих розмірів у більшості випадків. Часто трапляються великі ядерця. Цитоплазма має вигляд вузького обідка. Нейропіль – гомогенний, світліший, ніж у групі Ф (рис. 10).

У щурів, яким вводили пірацетам на тлі анестезії тіопенталом (група ПП), виявлено збільшення щільності розташування нейронів кори з темними маленькими ядрами. Гіперплазії ядер нейронів не зафіксовано (рис. 11).

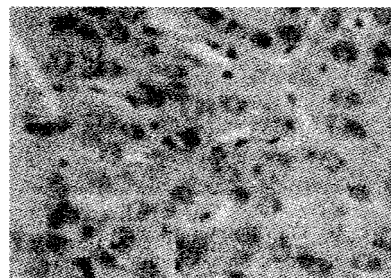
У препаратах кори головного мозку щурів після введення сульфату магнію на тлі тіопенталової анестезії (група ТМ) спостерігали зменшення кількості та розміру ядер нейронів порівняно з групою Т. Більшість ядер мають витягнуту форму та компактний хроматин. Нейропіль – з широкими комірками (рис. 12).



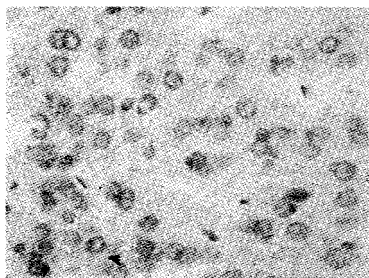
**Рис. 4.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення кетаміну. Нейрони розташовані рідко, ядра гетерохромні. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



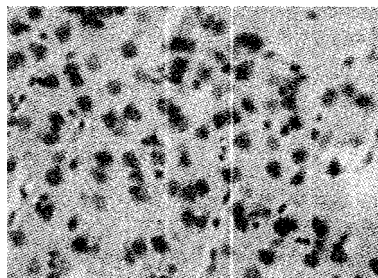
**Рис. 5.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення кетаміну та пірацетаму. Нейрони розташовані щільно, видно гліальні клітини. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



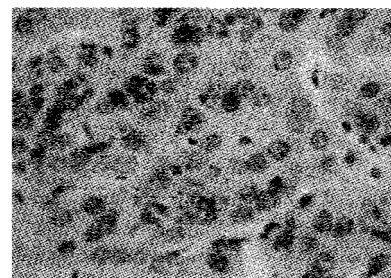
**Рис. 6.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення кетаміну та сульфату магнію. Нейрони розташовані рідко, ядра світлі. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 7.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення ГОМК. Ядра нейронів світлі, у деяких ядрах має місце каріолікноз. Гіперплазія ядер. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 8.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення ГОМК та пірацетаму. Ядра гіперхромні, нейропіль світлий. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 9.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення ГОМК та сульфату магнію. Ядра нейронів розташовані рідко, деякі з хроматолізом. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400

У щурів групи П, яким вводили пропофол, відзначено деяку розрідженість розташування ядер кортикальних нейронів і зміни у хромності ядер: появу як темних, так і еухромних ядер. Кількість гліальних клітин збільшена (рис. 13).

У зрізах кори головного мозку щурів групи ПП (комбінація пропофолу з пірацетамом) домінують нейрони з гіперхромними ядрами. Трапляються також нейрони зі світлими ядрами, у деяких має місце хроматолізис у центрі ядра. Загалом гістологічна картина у групі ПП подібна до такої групи П з деякими змінами, характерними для групи ФП (рис. 14).

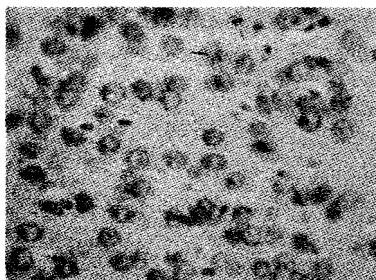
У зрізах кори щурів групи ПМ (комбінація пропофолу із сульфатом магнію) спостерігали ділянки без нейронів. Нейрони, які залишилися, мають ядро великого розміру, хроматин перебуває в еухромному стані. Частіше трапляються ядра з хроматолізисом (рис. 15).

### Результати морфометричних досліджень

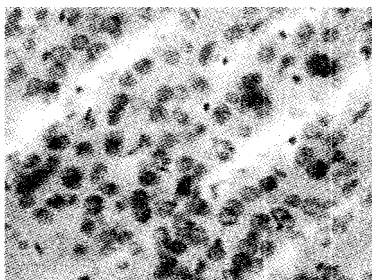
Пірацетам у нашому дослідженні не впливав на кількість нейронів у фіксованій ділянці кори, тобто у використаній дозі пірацетам не спричиняв загибелі нейронів у корі. Під впливом сульфату магнію кількість кортикальних нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup> зменшувалась на 38% ( $p = 0,0048$ ) (рис. 16).

Уведення кетаміну (група К) спричиняло зменшення кількості кортикальних нейронів порівняно з групою Ф ( $p=0,026$ ), хоч і менш виражене, ніж у групі ФМ. Додаткове до кетаміну введення пірацетаму (група КП) дещо зменшувало апоптотичну загибель кортикальних нейронів під дією кетаміну ( $p=0,032$ ), однак не нівелювало її повністю (порівняно з групою ФП – різниця значна,  $p=0,048$ ). Додавання до кетаміну сульфату магнію (група КМ) спричиняло значне зниження кількості нейронів у корі ( $p=0,036$ ), як і в групі ФМ (див. рис. 16).

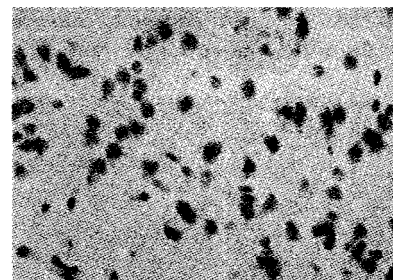
ГОМК при окремому введенні знижувала кількість кортикальних нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup> на 46% порівняно з групою Ф ( $p=0,0031$ ). Пірацетам і сульфат



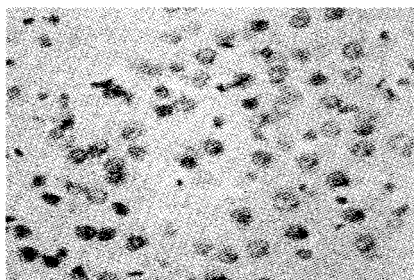
**Рис. 10.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення тіопенталу натрію. Ядра світлі, великих розмірів, трапляються великі ядерця. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



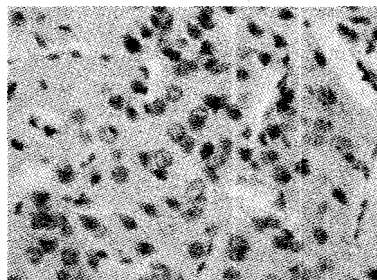
**Рис. 11.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення тіопенталу натрію та пірацетаму. Ядра нейронів темні, малого розміру. Нейрони розташовані щільно. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



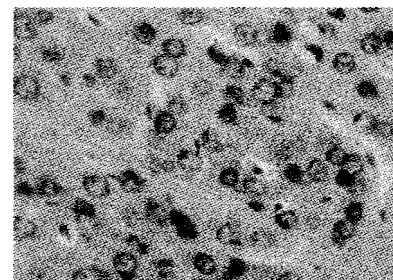
**Рис. 12.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення тіопенталу натрію та сульфату магнію. Більшість ядер мають витягнуту форму та компактний хроматин. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 13.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення пропофолу. Видно як темні, так і світлі ядра нейронів. Збільшена кількість гліальних клітин. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 14.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення пропофолу та пірацетаму. Більшість ядер нейронів гіперхромні. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400



**Рис. 15.** Гангліонарний шар тім'яної кори двомісячного щура після введення пропофолу та сульфату магнію. Ядра великих розмірів, еухромні. Фарбування галоціаніном за Ейнарсоном. х400

магнію при додаванні до ГОМК дещо збільшували цей показник порівняно з групою Г ( $p=0,024$ ), але не нормалізували його до рівня групи Ф (див. рис. 16).

Пропофол порівняно з групою Ф істотно знижував ( $p=0,017$ ) кількість кортикальних нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup> на 33%. Додавання пірацетаму не нівелювало негативний вплив пропофолу на цей показник. Додавання сульфату магнію до пропофолу знижувало кількість нейронів на 50% порівняно з групою Ф ( $p<0,01$ ) та на 20% порівняно з групою П, тобто ця комбінація спричиняла значну загибель нейронів кори (див. рис. 16).

Тіопентал при окремому введенні на 58% ( $p=0,0012$ ) знижував кількість нейронів у корі. Додавання пірацетаму до тіопенталу підвищувало виживаність нейронів. Так, у групі ТП їхня кількість на площі 1000 мкм<sup>2</sup> була на 56% вищою, ніж у групі Т ( $p=0,0015$ ), хоча залишалася на 35% нижчою, ніж у групі Ф. Комбінація сульфату магнію з тіопенталом знижувала цей показник на 36% порівняно з групою Ф, але його величина була на 53% вищою, ніж у групі Т (див. рис. 16).

Площа перерізу ядер кортикальних нейронів (рис. 17) під впливом пірацетаму незначно знижувалася ( $p=0,34$ ). Під впливом сульфату магнію цей показник виявляв тенденцію до збільшення, хоч і незначну ( $p=0,12$ ).

Кетамін порівняно з групою Ф значно зменшував середню площу перерізу ядер кортикальних нейронів ( $p=0,048$ ). Додавання кетаміну, пірацетаму і сульфату магнію збільшувало цей показник ( $p<0,001$ ) порівняно з окремим введенням кетаміну (див. рис. 17).

ГОМК істотно збільшувала площу перерізу ядер кортикальних нейронів (див. рис. 17) порівняно з групою Ф ( $p=0,001$ ). Такий ефект ГОМК зменшувався у разі додавання до нього пірацетаму ( $p=0,0005$ ) і сульфату магнію ( $p=0,014$ ).

Пропофол незначно ( $p=0,36$ ) підвищував площу перерізу ядер кортикальних нейронів (див. рис. 17). Додавання пірацетаму до пропофолу значно ( $p<0,0001$ )

зменшувало цей показник, а додавання сульфату магнію – незначною мірою ( $p=0,23$ ) порівняно з групою П.

Тіопентал при окремому введенні значно ( $p<0,0001$ ) збільшував площу перерізу ядер кортикальних нейронів (див. рис. 17) порівняно з фізіологічним розчином. Додавання до тіопенталу пірацетаму (група ТП) нормалізувало цей показник, який за величиною майже не відрізнявся від показника групи Ф ( $p=0,88$ ), у групі ТП він був значно нижчий, ніж у групі Т ( $p<0,0001$ ). Додавання сульфату магнію до тіопенталу значно зменшувало площу перерізу ядер кортикальних нейронів порівняно з окремим введенням тіопенталу ( $p<0,0001$ ), цей показник у групі ТМ був нижчим за показник групи Ф ( $p=0,47$ ).

Під впливом пірацетаму оптична щільність ядер кортикальних нейронів при фарбуванні галоціаніном за Ейнарсоном (рис. 18) значно підвищувалася ( $p=0,02$ ), тобто хроматин ставав більш гетерохромним порівняно з групою Ф. Під впливом сульфату магнію оптична щільність ядер значно ( $p<0,0001$ ) зменшувалася, тобто стан хроматину змінювався на більш еухромний.

Кетамін значно знижував оптичну щільність ядер кортикальних нейронів при фарбуванні галоціаніном ( $p=0,002$  порівняно з групою Ф), додавання до кетаміну як пірацетаму, так і сульфату магнію не збільшувало оптичної щільності, яка залишалася в групах К, КП та КМ на однаково низькому рівні (див. рис. 18).

ГОМК незначно знижувала оптичну щільність ядер при окремому введенні (див. рис. 18) порівняно з групою Ф ( $p=0,06$ ), а в комбінації з пірацетамом та сульфатом магнію – знижувала цей показник ще більше ( $p<0,01$ ).

Пропофол значно ( $p<0,0001$ ) знижував оптичну щільність ядер кортикальних нейронів при фарбуванні галоціаніном (див. рис. 18). Додавання пірацетаму до пропофолу підвищувало цей показник до фізіологічного рівня, тоді як додавання сульфату магнію – ще більше знижувало його.

Тіопентал порівняно з фізіологічним розчином значно ( $p<0,0001$ ) знижував оптичну щільність ядер кортикальних нейронів. Додавання до тіопенталу пірацетаму і сульфату магнію істотно ( $p<0,0001$ ) підвищувало цей показник порівняно з окремим введенням тіопенталу (див. рис. 18).

На вміст нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів (рис. 19) пірацетам істотно не впливав ( $p=0,74$ ). Під впливом сульфату магнію цей показник незначно ( $p=0,35$ ) зменшувався порівняно з групою Ф.

При введенні кетаміну сумарна кількість нуклеїнових кислот у ядрах нейронів кори (див. рис. 19) значно ( $p<0,0001$ ) зменшувалася порівняно з контрольною групою Ф. Додавання пірацетаму до кетаміну спричиняло підвищення цього показника порівняно з групою К ( $p<0,0001$ ), хоч і не

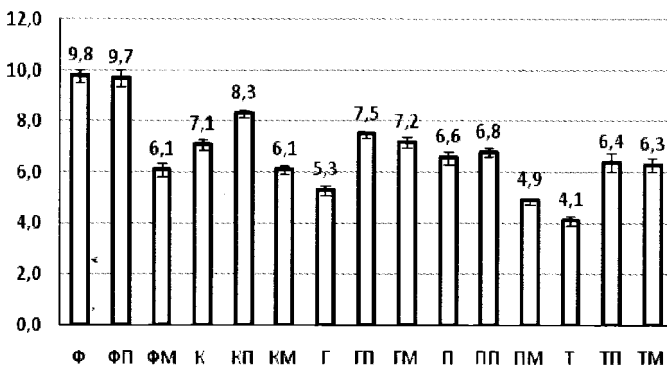


Рис. 16. Кількість кортикальних нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup>

нормалізувало його. Введення сульфату магнію на тлі анестезії кетаміном значно ( $p < 0,0001$ ) підвищувало сумарну кількість нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів, але це підвищення відбувалося переважно за рахунок збільшення площі ядра при низькій оптичній щільності.

ГОМК підвищувала вміст нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів порівняно з групою Ф ( $p = 0,01$ ). Значно нижчі рівні нуклеїнових кислот ( $p < 0,0001$  порівняно з групою Г) виявлено у групах ГП та ГМ (див. рис. 19).

Пропофол при окремому введенні значно ( $p = 0,003$ ) знижував вміст нуклеїнових кислот (див. рис. 19) у ядрах кортикальних нейронів. Додавання до нього пірацетаму не нормалізувало цей показник. А додаткове введення сульфату магнію на тлі пропофолової анестезії ще більше знижувало вміст нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів.

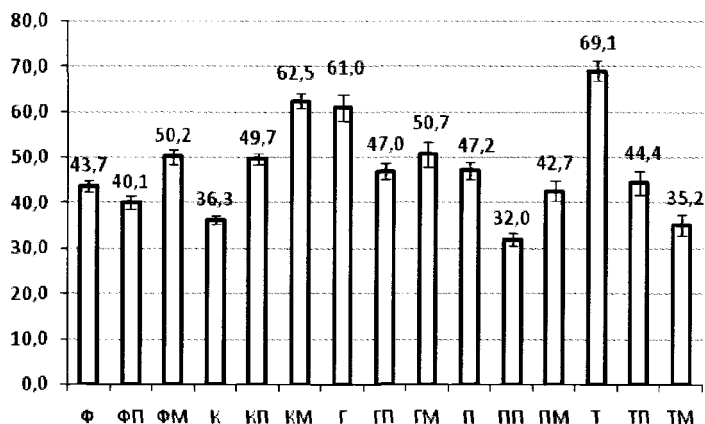


Рис. 17. Площа ядер кортикальних нейронів, мкм<sup>2</sup>

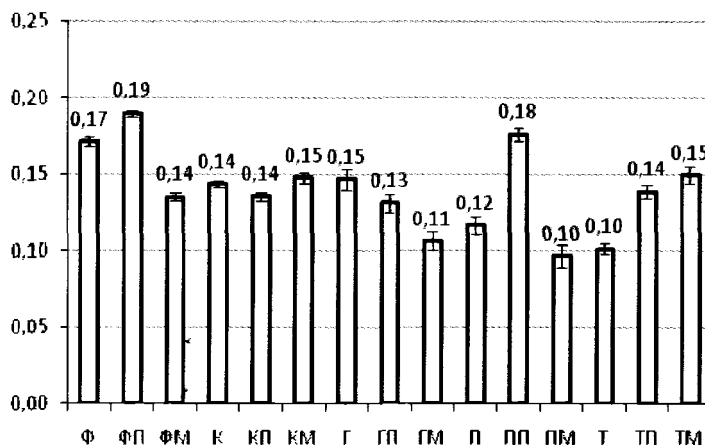


Рис. 18. Оптична щільність ядер кортикальних нейронів, у.о.

Вміст нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів під дією тіопенталу незначно ( $p = 0,39$ ) знижувався порівняно з групою Ф (див. рис. 19). Додавання пірацетаму до тіопенталу ще більше знижувало цей морфометричний показник, хоча різниця між групами Т та ТП була статистично незначною ( $p = 0,11$ ). Комбінація тіопенталу із сульфатом магнію також знижувала вміст нуклеїнових кислот у ядрах кортикальних нейронів. Так, у групі ТМ цей показник значно відрізнявся від показників груп Т ( $p = 0,004$ ) та Ф ( $p = 0,006$ ).

### Результати імуногістохімічного дослідження експресії каспази-3

Оцінка експресії каспази-3 у досліджуваній ділянці тім'яної кори щурів з використанням специфічних моноклональних антитіл і люмінесцентної візуалізації виявила, що у щурів групи Ф у корі великих півкуль головного мозку трапляється дуже мало клітин з

інтенсивною експресією каспази-3. При цьому спостерігається дуже слабе світіння нейропіля, тобто мала місце загибель відростків живих нейронів.

Інтенсивність люмінесцентного світіння становила 0,12 у.о., що можна прийняти за рівень фізіологічного апоптозу нейронів кори (рис. 20).

У групі ФП порівняно з групою Ф спостерігали підвищення специфічного світіння нейропіля. Визначення інтенсивності світіння в умовних одиницях підтвердило незначне підвищення експресії каспази-3, можливо, внаслідок пролонгації життєдіяльності нейронів на різних стадіях фізіологічного апоптозу (див. рис. 20).

У групі ФМ виявлено високу експресію каспази-3 у багатьох ділянках кори та навіть в ендотелії судин (див. рис. 20). Спостерігали інтенсивне світіння нейропіля, що свідчить про загибель нейронів та їхніх дендритів шляхом апоптозу і збігається зі зменшенням кількості цих нейронів на одиницю площі.

Уведення кетаміну підвищувало експресію каспази-3 у кортикальних нейронах на третину порівняно з групою Ф ( $p = 0,024$ ), що підтверджує апоптотичний характер загибелі нейронів. Уведення пірацетаму на тлі кетамінового наркозу не змінювало ступінь експресії каспази-3 порівняно з групою К. Ураховуючи збереження більшої кількості нейронів у групі КП, цей факт можна трактувати як продовження життєдіяльності нейронів, у яких розпочалися апоптотичні зміни. Додавання сульфату магнію до кетаміну значно

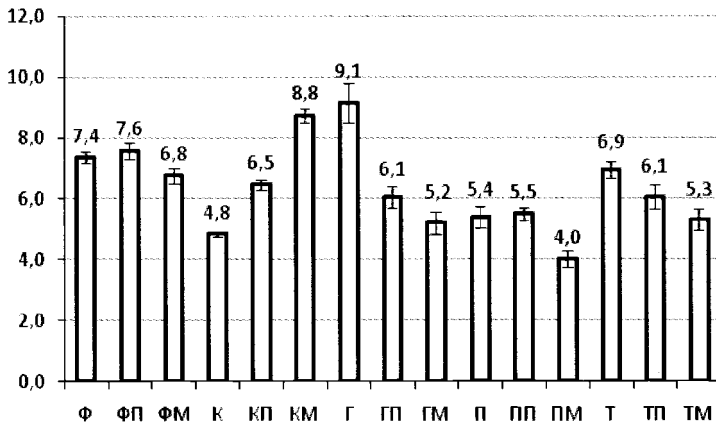


Рис. 19. Вміст нуклеїнових кислот в ядрах кортикальних нейронів, у.о.

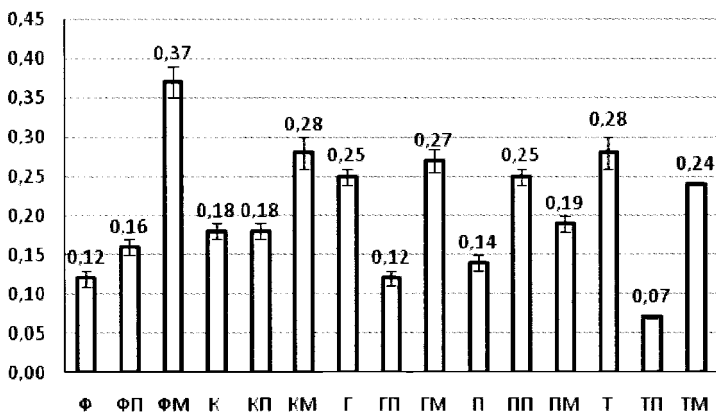


Рис. 20. Експресія каспази-3 в корі великих півкуль, у.о.

підвищувало експресію каспази-3 у кортикальних нейронах ( $p=0,004$  між групами К та КМ), що, ймовірно, є результатом посилення нейронального апоптозу (див. рис. 20).

Порівняння результатів дослідження експресії каспази-3 у групах основної серії з оксидутиратом натрію та контрольної серії виявило, що після введення ГОМК експресія каспази-3 була вдвічі вищою, ніж у групі Ф ( $p=0,0062$ ). Додавання до ГОМК пірацетаму спричиняло різке зниження експресії каспази-3 порівняно з групою Г ( $p=0,0007$ ), цей показник (група ГП) дорівнював показнику групи Ф, тоді як додавання сульфату магнію (група ГМ) практично не змінювало ( $p=0,38$ ) високої експресії каспази-3 під дією ГОМК.

При імуногістохімічному дослідженні у групі П спостерігали незначну кількість апоптотично змінених клітин з високою експресією каспази-3. Звертає увагу наявність більш інтенсивного світіння нейропіля. Загалом експресія каспази-3, оцінена в умовних одиницях світіння, є доволі низькою (див. рис. 20) та істотно не відрізняється

від показника групи Ф ( $p=0,084$ ). Проте це не можна трактувати як низький рівень нейронального апоптозу. Якщо взяти до уваги зниження кількості кортикальних нейронів у цій групі та морфометричні ознаки апоптозу, то низький рівень каспази-3, можливо, є наслідком завершення апоптозу нейронів та елімінації продуктів апоптозу до моменту виведення тварин з експерименту.

У препаратах кори головного мозку щурів групи ПП спостерігали збільшення кількості нейронів з високою експресією каспази-3 порівняно з групою П, а також ділянки інтенсивного світіння нейропіля. Експресія каспази-3 становила 0,25 у.о., що вище, ніж у групі П (див. рис. 20). Пірацетам, можливо, подовжує тривалість життя нейронів, в яких розпочався апоптоз під впливом пропופолу.

При імуногістохімічному дослідженні препаратів кори головного мозку щурів групи ПМ виявлено більші ділянки кори з інтенсивним світінням нейропіля. Експресія каспази-3 виявилась вищою, ніж у групі П, але нижчою, ніж у групі ПП (див. рис. 20), що також можна пояснити короткотривалістю дії пропופолу та швидкою елімінацією апоптотичних тілець. Імовірно, що сульфат магнію прискорює та поглиблює нейрональний апоптоз, спричинений пропополом.

У препаратах тварин групи Т виявлено мозаїчно розташовані ділянки з високою експресією каспази-3, тоді як тіла нейронів з яскравим світінням майже відсутні. Експресія каспази-3 у групі Т становила 0,28 у.о. світіння, що значно ( $p=0,0018$ ) вище, ніж у групі Ф (див. рис. 20).

У мікропрепаратах кори головного мозку щурів групи ТП при виконанні імуногістохімічної реакції з антитілами до каспази-3 спостерігали слабку експресію цього ферменту апоптозу в нейропілі (див. рис. 20). Люмінесцентне світіння було слабшим, ніж у групі Т ( $p=0,00012$ ).

Імуногістохімічне дослідження у групі ТМ виявило окремі фокуси з високою експресією каспази-3, особливо звертає увагу апоптотична загибель ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла. При додаванні сульфату магнію до тіопенталу експресія каспази-3 у корі знижувалася до 0,24 у.о. Цей показник був нижчим, ніж у групі ФМ ( $p=0,025$ ) і Т ( $p=0,078$ ), але вдвічі вищим, ніж рівень фізіологічного апоптозу (див. рис. 20).

Таким чином, усі досліджені анестетики підвищують експресію каспази-3 в корі великих півкуль головного мозку щурів, що підтверджує апоптотичний характер загибелі нейронів. За інтенсивністю люмінесцентного

світіння анестетики можна розташувати в такому порядку: тіопентал > ГОМК > кетамін > пропофол (див. рис. 20).

#### Плоідність ядер кортикальних нейронів

У нейронах кори великих півкуль, які залишилися живими до моменту виведення тварин з експерименту, тобто через 1 год, відбувається процес поліплоїдизації. Середня плоідність ядер кортикальних нейронів (рис. 21) у групі Ф становить  $(4,32 \pm 0,24)$  с. Цей показник підвищувався під впливом пірацетаму у півтора разу ( $p < 0,0001$ ). Порівняно з групою Ф у групі ФП максимум зміщений вправо (6 с – 7 с – 8 с), з'являються нейрони з ядрами плоідністю 11–15 с.

Середня плоідність ядер кортикальних нейронів під дією сульфату магнію підвищувалася на 36% ( $p = 0,003$ ), а крива розподілу нейронів за плоідністю ядер мала довершинний характер, також мало місце зміщення максимуму праворуч.

Аналіз розподілу нейронів за плоідністю їхніх ядер виявив цікаву картину. У групі Ф, тобто за відсутності дії лікарських препаратів, спостерігали домінування нейронів з ядрами плоідністю 4 с–5 с (70%). У групі ФП у великій кількості з'являлися нейрони з плоідністю ядер 7 с та 8 с, підвищувалася кількість нейронів з плоідністю ядер 6 с (70% нейронів мали ядра з плоідністю 6 с – 7 с – 8 с). У цій групі відсутні нейрони з плоідністю 3 с, найімовірніше, це зумовлено стимуляцією подвоєння хромосом у ядрах і переходом у розряд нейронів з більш високою плоідністю ядер. У групі ФМ відбувалося збільшення кількості нейронів з ядрами плоідністю 6 с та 7 с на тлі зменшення кількості нейронів з плоідністю ядер 2 с та 5 с. Якщо припустити, що нейрони з ядрами плоідністю 2 с під час експерименту підвищили свою плоідність, то нейрони з ядрами плоідністю 5 с могли не тільки підвищити плоідність, а й загинути шляхом апоптозу, оскільки нейронів з дуже високою плоідністю ядер (8 с і більше) небагато.

Кетамін помірно підвищував середню плоідність ядер кортикальних нейронів ( $p = 0,03$ ). А введення пірацетаму і сульфату магнію на тлі кетамінового наркозу спричиняло різке підвищення ( $p < 0,0001$ ) середньої плоідності ядер кортикальних нейронів (див. рис. 21).

ГОМК підвищувала середню плоідність ядер кортикальних нейронів на 46% відносно групи Ф ( $p = 0,01$ ). Пірацетам частково зменшував дію ГОМК на плоідність ядер ( $p = 0,13$ ), а сульфат магнію, навпаки, посилював її ( $p = 0,01$ ) (див. рис. 21).

Пропофол при окремому введенні підвищував на 34% ( $p = 0,025$ ) середню плоідність ядер кортикальних нейронів з появою ядер з плоідністю від 7 с до 15 с, частка яких становила 25% (див. рис. 21). Пропофол у комбінації з пірацетамом підвищував середню плоідність ядер кортикальних нейронів на 14% порівняно з групою Ф, але порівняно з групою П цей показник у групі ПП був нижчим на 15%. З'являються моноплоідні нейрони (2%), які, ймовірно, гинуть. Додавання сульфату магнію до пропофолу максимально збільшувало середню плоідність ядер кортикальних нейронів у щурів. Цей показник у групі ПМ був вищим на 60%, ніж у групі Ф, і на 19%, ніж у групі П.

Середня плоідність ядер кортикальних нейронів у групі Т збільшувалася на 85% ( $p < 0,0001$ ) порівняно з групою Ф (див. рис. 21). Стимуляція поліплоїдизації під дією пірацетаму додається до компенсаторної поліплоїдизації, внаслідок чого саме в групі ТП спостерігається максимальний рівень середньої плоідності ядер нейронів. Сульфат магнію частково нейтралізував дію тіопенталу на середню плоідність ядер кортикальних нейронів, але це відбувалося переважно за рахунок загибелі нейронів з плоідністю 9–15 с і підвищення частки нейронів з плоідністю ядер до 9 с.

Таким чином, усі досліджувані анестетики підвищували середню плоідність ядер кортикальних нейронів: тіопентал – на 86%, ГОМК – на 46%, пропофол – на 35% та кетамін –

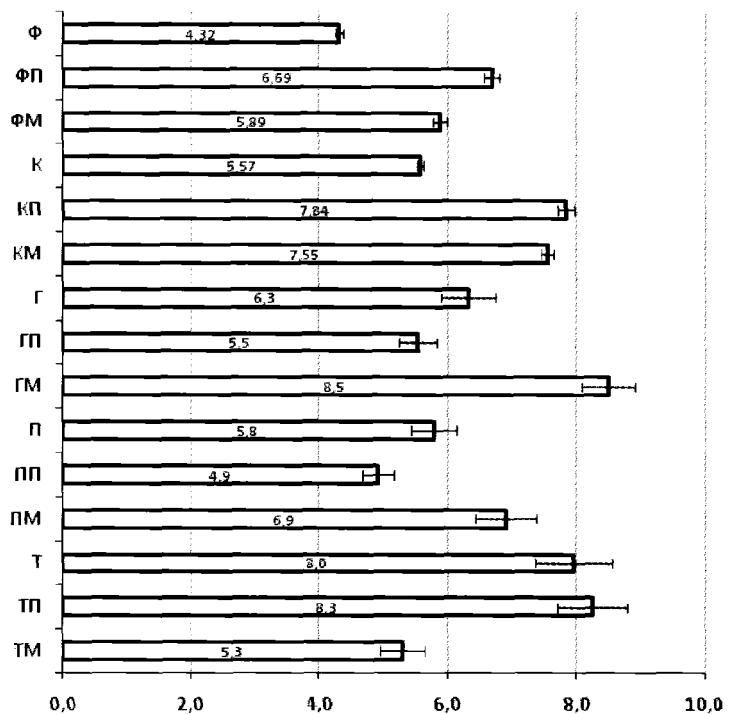


Рис. 21. Середня плоідність ядер кортикальних нейронів, с



на 30% (див. рис. 21). Поліплоїдизація, можливо, має компенсаторний характер. Спостерігається така закономірність: що більше анестетик зменшує кількість нейронів кори великих півкуль, то більше зростає середня плоідність ядер нейронів, які збереглися. Однак досі не існує загальноприйнятого способу оцінки морфофункціональних можливостей щодо відновлення нейронів, які залишилися живими після нейротоксичної дії загальних анестетиків. Ми пропонуємо проводити таку оцінку шляхом розрахунку інтегрального показника, який являє собою добуток кількості нейронів на площі 1000 мкм<sup>2</sup> мікропрепарату кори головного мозку експериментальних тварин та середньої плоідності ядер цих нейронів [6]. Значення цього інтегрального показника може відрізнятися для різних нейронів, тому оцінку потрібно проводити при порівнянні з контрольною групою тварин, яким вводять фізіологічний розчин. Значення інтегрального показника нижче, ніж у контрольній групі, свідчить про знижену можливість щодо відновлення функцій нейронів. Таким чином можна також порівнювати інтегральні показники при застосуванні різних загальних анестетиків, що дає змогу прогнозувати можливості щодо відновлення вищих нервових функцій після перенесеного наркозу.

Пірацетам – ноотропний препарат, який посилює синтез нуклеїнових кислот у нейронах і покращує нейромедіаторний обмін, у нашому експерименті забезпечував захист від нейротоксичності загальних анестетиків. При окремому введенні пірацетам істотно підвищував середню плоідність ядер нейронів у корі, не впливаючи на їхню кількість. Уведення пірацетаму на тлі наркозу покращує виживаність нейронів. Такий ефект пірацетаму особливо виражений у корі великих півкуль при анестезії тіопенталом (на 56%) та оксидутиратом (на 41%). При кетаміновій анестезії пірацетам підвищує зберігання нейронів кори великих півкуль на 17%, а при анестезії пропофолом – лише на 3%. При введенні під час анестезії синергізм підвищувального ефекту ноотропа на середню плоідність ядер нейронів кори великих півкуль спостерігається лише в комбінації з кетаміном. При анестезії оксидутиратом, тіопенталом і пропофолом додавання пірацетаму не стимулює компенсаторну поліплоїдизацію ядер кортикальних нейронів.

Уведення пірацетаму на тлі фізіологічного розчину дещо підвищує рівень експресії каспази-3 у корі великих півкуль, можливо, внаслідок пролонгації життя апоптотичних нейронів. Додавання пірацетаму знижує експресію каспази-3 при наркозі тіопенталом та оксидутиратом натрію, не впливає на цей показник на тлі кетамінового наркозу, а на тлі пропофолового наркозу, навпаки, підвищує зазначений показник, що також може бути наслідком подовження життя апоптотично змінених нейронів. При цьому більш інтенсивно світиться нейропіль,

що може бути ознакою апоптотичного процесу у відростках нейронів зі збереженням ядер. Можливо, ці нейрони в подальшому можуть відновитися. Цю гіпотезу підтверджує збереження кількості нейронів при додаванні пірацетаму до анестетиків.

Період інтенсивного росту головного мозку та посиленого синаптогенезу припадає у щурів на перші тижні постнатального періоду, а в людини – на третій триместр пренатального періоду та перші два роки життя. A. Frederiksson et al. [18] досліджували в експерименті на 7-денних мишах нейрональний апоптоз, спричинений різними загальними анестетиками та їхніми комбінаціями. В одній групі досліджували головний мозок мишей на предмет апоптозу через добу після введення препаратів. В іншій групі визначали спроможність до засвоєння навичок у віці 55–70 діб. Автори зробили висновок про те, що агоністи ГАМК-рецепторів (пропофол і тіопентал) та антагоніст NMDA-рецепторів (кетамін), уведені в критичний період розвитку мозку, потенціюють загибель нейронів і порушують їхню функцію у дорослому віці. Застосування комбінації препаратів цих двох груп було більш шкідливим, ніж дія кожного з них окремо. Ці автори довели, що доза пропофолу 10 мг/кг, введена окремо, не спричиняла нейродегенерацію та когнітивний дефіцит, тоді як комбінація цієї дози з кетаміном (25 мг/кг) та доза пропофолу 60 мг/кг, введена окремо, були токсичними для головного мозку: спричиняли апоптотичну дегенерацію нейронів та порушували когнітивний стан щурів.

За даними О.В. Фролової зі співавт., порушення когнітивних функцій після кетамінової анестезії у 3–5-місячних щурів корелює з інтенсивністю нейронального апоптозу в корі потиличної частки головного мозку [10].

Наші дані підтверджують апоптотичну дію пропофолу на центральну нервову систему, яку спостерігали інші дослідники [20, 32, 35]. На відміну від деяких досліджень [23, 30], які підтверджують відсутність нейротоксичної дії навіть високих доз пропофолу на диференційовані нейрони (3-тижневій первинно-дисоційованій культурі кори, які містять нейрони з високодиференційованою структурою дендритів), отримані нами дані свідчать про токсичність анестетичної дози пропофолу для 2-місячних щурів, тобто із завершеним синаптогенезом.

У доступній літературі ми не знайшли даних відносно впливу загальних анестетиків на плоідність нейронів, хоча поліплоїдія в різних клітинах організму, як компенсаторна реакція на дію пошкоджуючих факторів, описана багатьма авторами. Загальна роль поліплоїдії визначається як підвищення функціональної активності клітини [3]. Нещодавно описано новий феномен загибелі нейронів, пов'язаний з аберантним мітозом, який отримав назву «мітотична катастрофа» [14]. Причини та механізми цього процесу остаточно невідомі, але існує думка про те, що

вона пов'язана з глибокою дизрегуляцією нейрона у вигляді патологічного розгалужування та патологічного дедиференціювання. Однією з ознак дизрегуляції хромосомного апарату клітин є поліплоїдія та поява гігантських багатоядерних клітин [9, 34].

Таким чином, результати проведених нами експериментів свідчать, що неінгаляційні анестетики (кетамін, ГОМК, тіопентал, пропофол) спричиняють нейрональний апоптоз у корі головного мозку щурів. У нейронах кори під дією анестетиків відбувається компенсаторна поліплоїдія ядер. Пірацетам демонструє церебропротекцію, найбільш виражену на тлі анестезії тіопенталом, оксибутиратом і кетаміном. На тлі наркозу пропофолом така дія пірацетаму була найменшою.

Ми оцінили також можливість церебропротекції сульфатом магнію від нейротоксичного впливу неінгаляційних анестетиків. Результати наших експериментів довели нейротоксичну дію самого сульфату магнію на досліджувані нейрони кори. Препарат, уведений на тлі анестезії неінгаляційними анестетиками, поглиблював нейрональний апоптоз унаслідок їхньої дії. Наші дані відносно дії сульфату магнію не збігаються з даними тих авторів, які спостерігали антиапоптотичну дію цього препарату [22, 27, 28, 31, 33, 37]. Наприклад, С. Turkyilmaz et al. [33] досліджували в експериментах на 7-денних щурах протективну дію сульфату магнію при гіпоксично-ішемічному ураженні головного мозку. Автори виявили значне зниження апоптотичного індексу в гіпокампі щурів, яким вводили сульфат магнію перед моделюванням ішемії-гіпоксії. Проте в корі великих півкуль значних змін не виявлено. Можливо, ці розбіжності пов'язані з наявністю ішемії-гіпоксії, відсутньої в нашому експерименті.

#### ВИСНОВКИ

1. Неінгаляційні анестетики (кетамін, ГОМК, тіопентал, пропофол) спричиняють нейрональний апоптоз у корі великих півкуль головного мозку щурів.
  2. У нейронах кори під дією анестетиків відбувається компенсаторна поліплоїдія ядер.
  3. Пірацетам демонструє церебропротекцію, найбільш виражену на тлі анестезії тіопенталом, оксибутиратом і кетаміном. На тлі наркозу пропофолом така дія пірацетаму була найменшою.
  4. Результати наших експериментів довели нейротоксичну дію сульфату магнію на досліджувані нейрони кори. Препарат, уведений на тлі анестезії неінгаляційними анестетиками, поглиблював нейрональний апоптоз унаслідок їхньої дії.
- У перспективі цікавим буде дослідження нейротоксичної дії інгаляційних анестетиків та оцінка церебропротекторів на тлі інгаляційної анестезії.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г.Г., Саниев К.Б. (2002) Пloidометрия в повышении качества патогистологической диагностики. Архив патологии, № 3, с. 31-33.
2. Боровиков В. (2003) STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. СПб.: Питер, 688 с.
3. Быков В.Л. (1998) Цитология и общая гистология. СПб.: СОТИС, 520 с.
4. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. (1982) Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина, 304 с.
5. Гланц С. (1999) Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 459 с.
6. Губіна-Вакулік Г.І., Фесенко У.А. (2010) Спосіб визначення морфофункціональних можливостей нейронів. Патент України на корисну модель 54997 А61В 10/00. Бюл. № 22.
7. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (2000) Збірка договорів Ради Європи. К.: Парламентське видавництво.
8. Коліушко К.Г., Фесенко У.А., Лебедев О.А. (2009) Досягнення та перспективи розвитку анестезіологічної допомоги дитячому населенню Харківщини. Хірургія дитячого віку, № 4, с. 71-75.
9. Крыжановский Г.Н., Меркулов Ю.А. (2006) Дизрегуляционная патология нервной системы, патологическое растромаживание и митотическая катастрофа нейрона. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, № 7, с.73-74.
10. Фролова О.В., Лалетин Д.И., Юдин Г.В., Фурсов М.А. (2007) Патогенетическая роль апоптоза клеток головного мозга в развитии постоперационной когнитивной дисфункции после кетаминовой анестезии. Материалы Всероссийской 66-й научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова, Томск, с. 364-366.
11. Шнайдер Н.А. (2008) Новый взгляд на проблему послеоперационной когнитивной дисфункции. Острые и неотложные состояния в практике врача, № 5-6, с. 64-68.
12. Яковцова А.Ф., Губіна-Вакулік Г.І., Кухтенко О.В., Гаргін В.В., Мирошниченко М.С. (2008) Спосіб морфологічної верифікації апоптозу. Патент України на корисну модель 37456 А61В 10/02. Бюл. № 22.
13. Biedler A., Juckenhofel S., Larsen R., et al. (1999) Postoperative cognition disorders in elderly patients. The results of the „International Study of Postoperative Cognitive Dysfunction” (ISPOCD 1). Anaesthetist, 48 (12): 884-895.
14. Castedo M., Perfettini J.L., Roumier T., et al. (2004) Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. Oncogene, 23 (16): 2825-2837.
15. Constant I. (2007) Anaesthetic agents in children: risk or benefit? Ann Fr Anesth Rean, 26 (6): 516-523.
16. Drasner K. (2010) Anesthetic effects on the developing nervous system: if you aren't concerned, you haven't been paying attention. Anesthesiology, 113 (1): 10-12.
17. Eckenhoff R.G., Johansson J.S., Wei H., et al. (2004) Inhaled anesthetic enhancement of amyloid-beta oligomerization and cytotoxicity. Anesthesiology, 101 (3): 703-709.
18. Fredriksson A., Ponten E., Gordh T., Eriksson P. (2007) Neonatal exposure to a combination of N-methyl-d-aspartate and gamma-aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. Anesthesiology, 107 (3): 427-436.
19. Hansen T.G., Christensen K., Flick R., et al. (2009) Anesthetic effects on developing brain: insights from epidemiology. Anesthesiology, 110 (1): 1-3.

20. Lasarzik J., Winkelheide U., Stallman S., et al. (2009) Assessment of postischemic neurogenesis in rats with cerebral ischemia and propofol anesthesia. *Anesthesiology*, 110 (3): 529-537.
21. Loepke A.W., Soriano S.G. (2008) An assessment of the effects of general anesthetics on developing brain structure and neurocognitive function. *Anesth Analg*, 106 (6): 1681-1707.
22. Maulik D., Qayyum I., Powell S.R., et al. (2001) Post-hypoxic magnesium decreases nuclear oxidative damage in the fetal guinea pig brain. *Brain Res*, 890 (1): 130-136.
23. Olney J.W. (2002) New insights and new issues in developmental neurotoxicology. *Neurotoxicology*, 23 (6): 659-668.
24. Olney J.W., Young C., Wozniak D.F., et al. (2004) Anesthesia-induced development neuroapoptosis: does it happen in humans? *Anesthesiology*, 101: 273-275.
25. Patel P., Sun L. (2009) Update on neonatal anesthetic neurotoxicity: insight into molecular mechanisms and relevance to humans. *Anesthesiology*, 110 (4): 703-708.
26. Perouansky M., Hemmings H.C. (2009) Neurotoxicity of general anesthetics: cause for concern? *Anesthesiology*, 111 (6): 1365-1371.
27. Ravishankar S., Ashraf Q.M., Fritz K., et al. (2001) Expression of Bax and Bcl-2 proteins during hypoxia in cerebral cortical neuronal nuclei of newborn piglets: effect of administration of magnesium sulfate. *Brain Res*, 901 (1-2): 23-29.
28. Sameshima H., Ikenoue T. (2002) Effect of long-term, postasphyxial administration of magnesium sulfate on immunostaining of microtubule-associated protein-2 and activated caspase-3 in 7-day-old rat brain. *J Soc Gynecol Investig*, 9 (4): 203-209.
29. Soriano S.C., Anand K.J., Rovnaghi C.R., Hickey P.R. (2005) Of mice and men: Should we extrapolate rodent experimental data to the care of human neonates? *Anesthesiology*, 102: 866-868.
30. Spahr-Schopfer I., Vutskits L., Toni N., et al. (2000) Differential neurotoxic effects of propofol on dissociated cortical cells and organotypic hippocampal cultures. *Anesthesiology*, 92 (5): 1408-1417.
31. Tang Y.N., Zhao F.L., Ye H.M. (2003) Expression of caspase-3 mRNA in the hippocampus of seven-day-old hypoxic-ischemic rats and the mechanism of neural protection with magnesium sulfate. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 41 (3): 212-214.
32. Tung A., Herrera S., Fornal C.A., Jacobs B.L. (2008) The effect of prolonged anesthesia with isoflurane, propofol, dexmedetomidine, or ketamine on neural cell proliferation in the adult rat. *Anesth Analg*, 106 (6): 1772-1777.
33. Turkyilmaz C., Turkyilmaz Z., Atalay Y., et al. (2002) Magnesium pre-treatment reduces neuronal apoptosis in newborn rats in hypoxia-ischemia. *Brain Res*, 955 (1-2): 133-137.
34. Yakifahmetoglu H., Olsson M., Zhivotovsky B. (2008) Death through a tragedy: mitotic catastrophe. *Cell Death Differ*, 15 (7): 1153-1162.
35. Vutskits L., Gascon E., Tassonyi E., Kiss J.Z. (2005) Clinically relevant concentrations of propofol but not midazolam alter in vitro dendritic development of isolated gamma-aminobutyric acid-positive interneurons. *Anesthesiology*, 102 (5): 970-976.
36. Wang C., Slikker W. Jr (2008) Strategies and experimental models for evaluating anesthetics: effects on the developing nervous system. *Anesth Analg*, 106 (6): 1643-1658.
37. Zhou H., Ma Y., Zhou Y., et al. (2003) Effects of magnesium sulfate on neuron apoptosis and expression of caspase-3, bax and bcl-2 after cerebral ischemia-reperfusion injury. *Chin Med J*, 116 (10): 532-534.

Г.И.Губина-Вакулик<sup>1</sup>, У.А.Фесенко<sup>1</sup>, В.С.Фесенко<sup>2</sup>

ВЛИЯНИЕ НЕИНГАЛЯЦИОННЫХ ОБЩИХ АНЕСТЕТИКОВ НА НЕЙРОНЫ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет; <sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования

Описаны результаты экспериментального исследования нейротоксического действия неингаляционных общих анестетиков на кортикальные нейроны у крыс. Выявлено защитное действие пирacetам и отсутствие церебропротекции сульфата магния на фоне общей анестезии.

**Ключевые слова:** общие анестетики, нейротоксичность, апоптоз, каспаза-3, пирacetам, сульфат магния.

G.I.Gubina-Vakulik<sup>1</sup>, U.A.Fesenko<sup>1</sup>, V.S.Fesenko<sup>2</sup>

THE INFLUENCE OF NON-INHALATIONAL GENERAL ANESTHETICS ON CORTICAL NEURONS OF CEREBRAL HEMISPHERES IN RATS

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University; <sup>2</sup>Kharkiv Medical Academy of Post-Graduate Education

The results of experimental study of the influence of general anesthetics on cortical neurons of cerebral hemispheres in rats are described. Piracetam protected the cortical neurons from the neurotoxicity of general anesthetics, and magnesium sulfate did not provide such protection.

**Key words:** general anesthetics, neurotoxicity, apoptosis, caspase-3, piracetam, magnesium sulfate.