

# СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ ПОД АНЕСТЕЗИЕЙ СЕВОФЛУРАНОМ (экспериментальное исследование)

Г. Ю. ЮКИНА<sup>1</sup>, И. В. БЕЛОЗЕРЦЕВА<sup>1</sup>, Ю. С. ПОЛУШИН<sup>1</sup>, В. В. ТОМСОН<sup>1</sup>, А. Ю. ПОЛУШИН<sup>1</sup>, С. Н. ЯНИШЕВСКИЙ<sup>2</sup>, В. О. КРИВОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБ ВОУ «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Гиппокамп играет важную роль в реализации когнитивно-мнестических функций. Он координирует эмоциональные процессы, определяет величину и специфику поведенческих, нейрональных и гормональных реакций. Структурные изменения нейронов гиппокампа могут приводить к нарушениям процессов обучения и памяти.

**Цель:** изучение морфометрических показателей полей гиппокампа крыс после операции на органах брюшной полости на фоне экспозиции севофлурана.

**Материал и методы.** Проведено экспериментальное исследование на крысах стока Вистар ( $n = 15$ ). Крысы экспериментальной группы ( $n = 7$ ) подвергались операции на органах брюшной полости на фоне анестезии севофлураном с последующей его длительной экспозицией (6 ч, 2 об. % севофлурана, поток воздуха 1 л/мин). В течение 21 сут у крыс обеих групп выполняли ряд поведенческих тестов. Через 12 ч после проведения последнего поведенческого теста (22-е сут после начала эксперимента) крыс декапитировали и извлекали головной мозг. Материал фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,4) не менее 24 ч. Препараты полей CA1, CA2, CA3 и CA4 изучали под световым микроскопом ДМ-750 (Leica, Германия) с помощью компьютерной программы анализа изображений ImageScore M при увеличении в 400 раз.

**Результаты.** В контроле цитоархитектоника полей гиппокампа не нарушена, пирамидные нейроны имели крупное округлое ядро с одним, двумя и более четкими ядрышками. Перичеселлюлярного и периваскулярного отека не выявлено. В экспериментальной группе структурно-функциональная перестройка затронула все поля гиппокампа. Это проявилось появлением как количественных, так и качественных признаков повреждения нейронов, в особенности в поле CA1. Отмечена дезорганизация слоев пирамидных нейронов, определены морфологически измененные нейроны: гиперхромные сморщенные без ядер или с плохо различимым ядром неправильной формы. Появление морфологически измененных нейронов и дезорганизация слоев гиппокампа приводили к изменению ширины слоя пирамидных нейронов.

**Вывод.** Морфологическая перестройка гиппокампальных структур крыс после операции и анестезии может лежать в основе ухудшения когнитивных функций в послеоперационном периоде.

**Ключевые слова:** послеоперационные когнитивные расстройства, нейровоспаление, нейродегенерация, севофлуран

**Для цитирования:** Юкина Г. Ю., Белозерцева И. В., Полушин Ю. С., Томсон В. В., Полушин А. Ю., Янишевский С. Н., Кривов В. О. Структурно-функциональная перестройка нейронов гиппокампа после операции под анестезией севофлураном (экспериментальное исследование) // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 14, № 6. – С. 65-72. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-6-65-72

## STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN HIPPOCAMPAL NEURONS AFTER SURGERY UNDER ANESTHESIA WITH SEVOFLURANE (experimental research)

G. YU. YUKINA<sup>1</sup>, I. V. BELOZERTSEVA<sup>1</sup>, YU. S. POLUSHIN<sup>1</sup>, V. V. TOMSON<sup>1</sup>, A. YU. POLUSHIN<sup>1</sup>, S. N. YANISHEVSKIY<sup>2</sup>, V. O. KRIVOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Hippocampus plays an important role in the cognitive mnesic functions. It coordinates emotional process, defines the intensity and specificity of behavioral, neuron and hormone reactions. Structural changes in hippocampus neurons can result in learning and memory disorders.

**The objective:** to investigate morphometric parameters of hippocampus fields in rats after abdomen surgery with exposure to sevoflurane.

**Subjects and methods.** The experimental research was performed using Wistar rats ( $n = 15$ ). Rats from the experimental group ( $n = 7$ ) had abdomen surgery with anesthesia with sevoflurane with the consequent continuous exposure to it (6 hours, 2 vol. % of sevoflurane, air flow – 1 l/min.). During 21 days rats from both groups had a number of behavioral tests. In 12 hours after the last behavioral test (on the 22-th day after the start of the experiment) the rats were decapitated with consequent brain extraction. The obtained materials were fixed in 10% neutral formalin on phosphate buffer (pH 7.4) for 24 hours minimum. Preparations of CA1, Ca2, Ca3, and Ca4 fields were studied under light microscope DM-750 (Leica, Germany) using the computer image analysis software of ImageScope M with 400-fold magnification.

**Results.** The tests showed that cytoarchitectonics of hippocampus field was intact, pyramidal neurons had a large rounded nucleus with one, two or more distinct nucleoli. No pericellular and perivascular edema was detected. In the experimental group, all fields of the hippocampus had structural and functional changes. It manifested through both quantitative and qualitative signs of neuronal damage, especially in the Ca1 field. Segments of pyramidal neurons were disorganized, morphologically modified neurons were found: hyperchromatic shriveled neurons with no nucleus or poorly visible nucleus of the irregular shape. The appearance of morphologically changed neurons and disorganization of hippocampal layers led to changes in the width of pyramidal neurons segments.

**Conclusion.** Morphological changes of hippocampal structures of rats after surgery and anesthesia may be the cause of cognitive functions decline during the postoperative period.

**Key words:** post-operative cognitive disorders, neuroinflammation, neurodegeneration, sevoflurane

**For citations:** Yukina G.Yu., Belozertseva I.V., Polushin Yu.S., Tomson V.V., Polushin A.Yu., Yanishevskiy S.N., Krivov V.O. Structural and functional changes in hippocampal neurons after surgery under anesthesia with sevoflurane (experimental research). *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2017, Vol. 14, no. 6, P. 65-72. (In Russ.) DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-6-65-72

Несмотря на значимые успехи в развитии анестезиологии, вероятность негативного воздействия анестетиков и операционного стресса на деятельность мозга в настоящее время полностью не исключена. Проблема когнитивной дисфункции, возникающей в послеоперационном периоде, привлекает внимание не только анестезиологического сообщества. Статьи, посвященные ближайшим или отдаленным последствиям анестезии, встречаются в специализированных журналах разного профиля [4, 5, 14].

В реализации когнитивно-мнестических функций важную роль играет гиппокамп как центральное образование лимбической системы. Он координирует эмоциональные процессы, определяет величину и специфику поведенческих, нейрональных и гормональных реакций. Повреждение нейронных прогениторных клеток зубчатой извилины гиппокампа нарушает гиппокампальный нейрогенез. Структурные изменения нейронов гиппокампа могут приводить к нарушениям процессов обучения и памяти [13, 16, 32].

Когнитивные нарушения на фоне подтвержденных морфологических изменений гиппокампа описаны как при нейродегенеративных заболеваниях после локального и тотального облучения тела, химиотерапии, так и после применения общей анестезии. При этом степень выраженности хемонекроза зависит от дозы облучения, дозы и продолжительности введения препаратов, возраста пациента [9, 11, 15, 23, 24, 27, 28].

В ряде работ показано, что применение анестетиков как в изолированном виде (галотан, кетамин, пропофол), так и в комбинации с другими препаратами (изофлуран с мидазоламом и закисью азота) может снижать синтез синаптических белков (синаптофизин, амфифизин, синаптобревин), запускать апоптоз, активизируя каспазы, и приводить к гиперэкспрессии белка NR2B, вызывающего атрофию пирамидных нейронов поля СА1. Полученные морфологические изменения сочетаются с нарушениями когнитивных и поведенческих функций [1, 7, 12, 18, 19, 31, 33]. Следует отметить, что индукция экспрессии проапоптотических каспаз (3 и 8) и блокирование синтеза белков после применения севофлурана могут сохраняться в течение 3 мес. после проведенной анестезии, что объясняет приписываемое севофлурану свойство отсроченной преходящей когнитивной дисфункции [30].

Интересными и перспективными в плане разработки мер по профилактике послеоперационных когнитивных расстройств являются исследования группы R. D. Hofacer (2013 г.), в которых было показано, что к основным предикторам нейродегенерации следует относить не возраст объекта, а возраст нейронов в момент экспозиции анестетика

на них [16]. По сути, можно говорить о существовании временных окон максимальной уязвимости разных регионов центральной нервной системы в зависимости от пика их синаптогенеза [8, 21, 22].

В связи с этим актуальным является дальнейшее изучение диапазона структурных изменений гиппокампа при общей анестезии.

Цель: изучение морфометрических показателей всех полей гиппокампа крыс после операции на органах брюшной полости на фоне экспозиции севофлурана.

### Материал и методы

Проведено экспериментальное исследование на крысах стока Вистар. Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями законодательства и «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» [2].

Изначально крыс распределяли на две группы (основную и контрольную) в случайном порядке. За 12 ч до начала эксперимента всех животных, в том числе контрольной группы, отлучали от корма.

Крысы экспериментальной группы (Э,  $n = 7$ ) подвергались длительной экспозиции севофлурана (6 ч) и операции на органах брюшной полости. Для индукции анестезии их помещали в индивидуальные боксы, которые размещали в специальной общей камере, подключенной к аппарату для ингаляционной анестезии, оборудованному испарителем "Sevorane" (Abbott Laboratories Ltd., Великобритания). Индукцию обеспечивали подачей 8 об. % севофлурана (№ серии 6042404) в потоке кислорода (2 л/мин) до потери двигательной активности. Для поддержания анестезии использовали 2 об. % севофлурана и поток кислорода 1 л/мин. Концентрацию анестетика в камере оценивали с помощью газоанализатора "Vamos" (Dräger, Германия). Спонтанное дыхание крыс не страдало.

Для выполнения операции крысу размещали на подогреваемом операционном столике. Подачу анестетика на время операции не прекращали. После бритья операционного поля кожу обрабатывали антисептическим раствором и проводили линейный разрез длиной около 1 см в области гипогастрия. Далее рассекали мышцы, фасции, брюшину и выделяли тощую кишку, которую в течение 10 с раздражали массирующими движениями указательного и большого пальцев. Затем кишку опускали в брюшную полость, рану послойно ушивали и обрабатывали антибактериальной присыпкой «Эдис» (ООО «Агросервис», г. Воронеж, Россия), содержащей стрептоцид (500 мг/1 г) и йодоформ (100 мг/1 г). По завершении операции крысу оставляли в камере до достижения 6-часовой экспозиции севофлурана.

Животных группы контроля (К,  $n = 8$ ) на 5 мин (максимальная длительность ограничения движений до засыпания крыс в основной группе) помещали в индивидуальные боксы, аналогичные тем, в которых находились крысы основной группы.

В течение 21 сут у крыс групп К и Э выполняли ряд поведенческих тестов. В течение всего этого времени они находились в одинаковых условиях. Через 12 ч после последнего теста (22-е сут после воздействия севофлурана и операции на органах брюшной полости) крыс декапитировали (гильотина) и извлекали головной мозг. Материал фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,4) не менее 24 ч. Для получения сопоставимых результатов от всех животных образцы обрабатывали параллельно и в одинаковых условиях.

После формалиновой фиксации, используя атлас "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates", из мозга вырезали участки на уровне передних теменных областей, содержащие гиппокамп [25, 29]. Используя стандартную гистологическую методику со спиртами возрастающей концентрации, материал заливали в парафиновые блоки. Срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы Accu-Cut SRT 200 (Sakuga, Япония) и окрашивали толуидиновым синим по методу Ниссля. Для обзорного исследования препаратов, определения отдельных слоев гиппокампа, а также в качестве вспомогательной методики для выявления нейронов использовали окраску гематоксилином Майера и эозином (Bio-Optica, Италия). На препаратах под световым микроскопом ДМ-750 (Leica, Германия) с помощью компьютерной программы анализа изображений ImageScore M на каждом срезе гиппокампа при увеличении в 400 раз в одном поле зрения ( $0,33 \times 0,25$  мм) подсчитывали количество неизменных пирамидных нейронов с одним, двумя и более ядрышками в полях СА1, СА2, СА3 и СА4. Нейроны оценивали в соответствии с существующими критериями: четко очерченное светлое ядро эллипсоидной или круглой формы, хорошо различимые ядрышки; перикарион пирамидных нейронов имеет четкие границы. Также во всех полях гиппокампа подсчитывали патологически измененные нейроны – гиперхромные

сморщенные нейроны без ядра, измеряли ширину слоя пирамидных нейронов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием двух пакетов программ: 1) программы Statistica 7.0 Stat.Soft для Windows (значимость различий оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни, различия считали значимыми при  $p \leq 0,01$ ); 2) с использованием пакета программ SigmaPlot (версия 12.5, Systat Software Inc., Chicago, IL, США). Так как данные не прошли проверку на нормальность распределения (тест Шапиро – Уилка), двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA; фактор 1 – «группа животных» с 2 уровнями; фактор 2 – «поле гиппокампа» с 4 уровнями) выполняли на рангах, а *post hoc* сравнения – с помощью критерия Бонферрони. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$  [24].

### Результаты исследования

В группе К цитоархитектоника полей гиппокампа животных не нарушена, пирамидные нейроны имели крупное округлое ядро с одним, двумя четкими ядрышками и более. Перицеллюлярного и периваскулярного отека не выявлено.

Поле СА1 является наибольшим, оно представлено плотно расположенными в 4–5 слоев мелкими пирамидными нейронами. Расстояние между телами соседних клеток достигает ширины синаптической щели [10]. В наших наблюдениях ширина слоя пирамидных нейронов составила  $140,5 \pm 5,1$  мкм, а количество неизменных нейронов –  $74 \pm 7$ . Среди них нейронов с одним ядрышком было  $38 \pm 3$ , с двумя ядрышками и более –  $24 \pm 6$ . Количество морфологически измененных нейронов составило  $18 \pm 3$ . Сравнительная характеристика разных полей гиппокампа по числу неизменных и измененных пирамидных нейронов представлена в табл. 1 и на рис. 1. На рис. 2 в качестве примера проиллюстрирован конкретный вид измененных и неизменных нейронов.

Поле СА2 занимает самую небольшую площадь, ее можно идентифицировать как переход от СА1 к СА3. Тела пирамидных клеток в этом поле значительно крупнее, чем в СА1. Нейроны расположены

**Таблица 1. Количество морфологически не измененных и измененных пирамидных нейронов в различных полях гиппокампа после длительной экспозиции севофлурана (6 ч) и операции на органах брюшной полости**

**Table 1. Number of morphologically unchanged and changed pyramidal neurons in various hippocampal fields after continuous exposure to sevoflurane (6 h) and abdominal surgeries**

Поля гиппокампа	Количество морфологически неизменных нейронов		Количество измененных нейронов (деформированные, гиперхромные)		Ширина слоя пирамидных нейронов, мкм	
	К	Э	К	Э	К	Э
СА1	74 ± 7	63 ± 8	18 ± 3	27 ± 6	140,5 ± 5,1	105,0 ± 7,1*
СА2	50 ± 8	42 ± 9	35 ± 5	42 ± 6	162,9 ± 14,0	153,7 ± 8,6
СА3	42 ± 8	39 ± 11	65 ± 8	67 ± 9	227,4 ± 19,0	192,9 ± 19,5
СА4	41 ± 6	34 ± 3	28 ± 6	24 ± 2	236,8 ± 25,2	186,3 ± 7,9

Примечание: \* – показатели статистически значимо отличаются от группы контроля при  $p < 0,05$ . Критерий Манна – Уитни

**Таблица 2.** Количество морфологически не измененных пирамидных нейронов гиппокампа с 1, 2 и более ядрышками после длительной экспозиции севофлурана (6 ч) и операции на органах брюшной полости

Table 2. Number of morphologically unchanged and changed pyramidal hippocampal neurons with 1, 2 and more nucleoli after continuous exposure to sevoflurane (6 h) and abdominal surgeries

Поля гиппокампа	Количество морфологически не измененных нейронов		Количество нейронов с одним ядрышком		Количество нейронов с 2 или 3 ядрышками	
	К	Э	К	Э	К	Э
CA1	74 ± 7	63 ± 8	38 ± 3	35 ± 7	24 ± 6	13 ± 1#
CA2	50 ± 8	42 ± 9	27 ± 3	25 ± 5	12 ± 4	6 ± 3
CA3	42 ± 8	39 ± 11	25 ± 4	24 ± 6	13 ± 3	5 ± 1#
CA4	41 ± 6	34 ± 3	17 ± 2	20 ± 2	20 ± 3	6 ± 1*

*Примечание:* \* – показатели статистически значимо отличаются от группы контроля при  $p < 0,05$ ; # – показатели имеют тенденцию к отличию от группы контроля при  $p < 0,06$ . Критерий Манна – Уитни

не столь плотно и лежат в 3–4 слоя. Ширина слоя пирамидных нейронов составила  $162,9 \pm 14,0$  мкм, количество неизмененных нейронов –  $50 \pm 8$ , среди которых с одним ядрышком было  $27 \pm 3$  и с двумя ядрышками и более –  $12 \pm 4$ . Число морфологически измененных нейронов составило  $35 \pm 5$ .

Поле CA3 характеризуется, с одной стороны, наибольшим размером пирамидных клеток, с другой – наименьшей плотностью их расположения. Пирамидные нейроны в поле CA3 располагаются рыхло в 4–5 слоев. Ширина слоя пирамидных нейронов составила  $227,4 \pm 19,0$  мкм. Количество неизмененных и измененных нейронов равнялось  $42 \pm 8$  и  $65 \pm 8$  соответственно. Среди морфологически не измененных нейронов с одним ядрышком было  $25 \pm 4$ , а с двумя ядрышками и более –  $13 \pm 3$ .

В поле CA4 пирамидные нейроны крупные, располагаются более рыхло, чем в других полях. Ширина слоя пирамидных нейронов здесь составила  $236,8 \pm 25,2$  мкм. Количество неизмененных нейронов равнялось  $41 \pm 6$ . Среди них нейронов с одним ядрышком  $17 \pm 2$ , с двумя ядрышками и более  $20 \pm 3$ . Количество морфологически измененных нейронов составило  $28 \pm 6$ .

В группе Э во всех полях гиппокампа отмечена дезорганизация слоев пирамидных нейронов. Наряду с морфологически не измененными нейронами с одним или двумя ядрышками, выявлялись нейроны с выраженными структурными изменениями: гиперхромные, сморщенные нейроны без ядра или с плохо различимым ядром неправильной формы. Определялся периваскулярный отек. Однако в поле CA1 количество неизмененных нейронов (а среди них число нейронов с одним ядрышком) хотя и уменьшалось, но значимо не отличалось от контрольных значений. Число нейронов с двумя ядрышками и более снижалось до 54,6% от уровня контрольных значений, что свидетельствовало лишь о тенденции к уменьшению количества нейронов с двумя ядрышками и более в поле CA1. Количество измененных нейронов незначимо возрастало до 153%. Увеличение числа морфологически измененных пирамидных нейро-

нов приводило к значимому уменьшению ширины слоя пирамидных нейронов до 75% от уровня контрольных значений.

В поле CA2 ширина слоя пирамидных клеток незначимо уменьшалась до 94%. Количество морфологически не измененных и измененных нейронов изменялось до 85 и 118% соответственно, значимо не отличаясь от контрольных значений. При этом число нейронов с одним, двумя ядрышками и более незначимо уменьшалось до 90 и 50,8% соответственно.

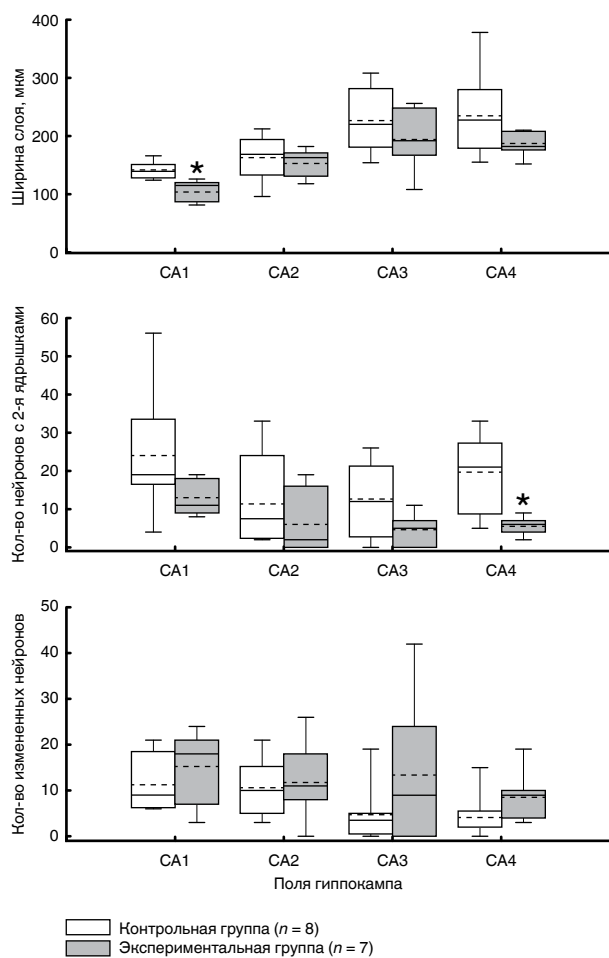
В поле CA3 ширина слоя пирамидных клеток и количество измененных нейронов незначимо изменялись до 85 и 103% соответственно. Количество морфологически не измененных нейронов уменьшилось до 93%, значимо не отличаясь от контрольных значений. Среди них количество нейронов с одним ядрышком также снижалось, без значимых отличий от параметров в группе К. Среди неизмененных нейронов число нейронов с 2 ядрышками и более снижалось до 37,6% от уровня контрольных значений и достигало уровня значимости.

В поле CA4 ширина слоя пирамидных клеток незначимо уменьшалась до 78,6%, число морфологически измененных нейронов также снижалось до 85%. Количество неизмененных нейронов снизилось до 83%, среди них количество нейронов с одним ядрышком также уменьшалось, но без значимых отличий от значений в группе К. Среди неизмененных нейронов число нейронов с двумя ядрышками и более снижалось до 28,7%, что было значимо меньше по сравнению с группой контроля.

### Обсуждение результатов

Обобщая полученные результаты, можно констатировать, что после длительной экспозиции севофлурана (6 ч) и хирургического вмешательства на органах брюшной полости структурно-функциональная перестройка затронула все поля гиппокампа. Это проявилось появлением как количественных, так и качественных признаков повреждения нейронов. Отмечена дезорганизация слоев пирамидных нейронов, определены морфологически из-



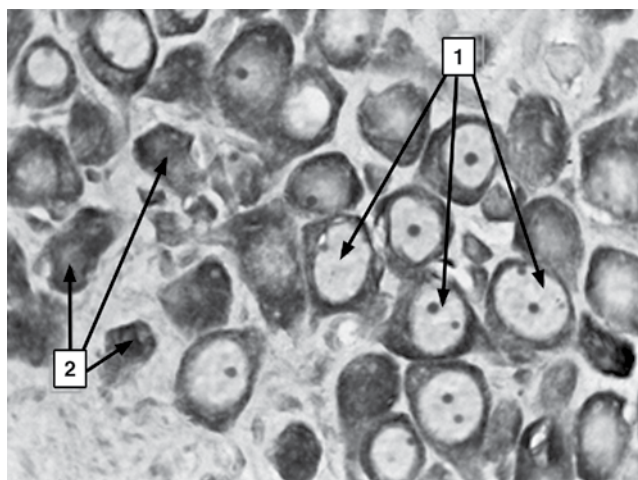


**Рис. 1.** Влияние длительной экспозиции (6 ч) севофлурана и модельной операции на органах брюшной полости на морфометрические показатели гиппокампа самцов крыс стока Вистар. Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают 25-й/75-й процентили, сплошная линия – медиану, пунктирная линия – среднее значение, а линия) и «усы» – 10-й и 90-й процентили.  $n = 7-8$ . \* –  $p < 0,05$  значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы (тест Бонферрони)

**Fig. 1.** The effect of continuous exposure (6 h) to sevoflurane and model abdominal surgery on morphometric rates of hippocampus in male Wistar rats. The data are presented as box-and-whiskers diagram, where boxes show the 25th/75th percentiles, the solid line is the median, the dashed line is the average value; and the line) and whiskers – the 10th and 90th percentiles.  $n = 7-8$ . \* –  $p < 0.05$  the differences are significant versus the relevant rates in the control group (Bonferroni test)

мененные нейроны: гиперхромные сморщенные без ядер или с плохо различимым ядром неправильной формы. Отмеченные выраженные морфологические изменения нейронов носят необратимый характер. Появление морфологически измененных нейронов и дезорганизация слоев гиппокампа приводили к изменению ширины слоя пирамидных нейронов во всех полях гиппокампа. Но значимо этот показатель снижался только в поле CA1.

О снижении функциональной активности гиппокампа в целом свидетельствовало уменьшение числа клеток с двумя ядрышками и более среди не-



**Рис. 2.** Пирамидные нейроны поля CA1 гиппокампа после длительной экспозиции севофлурана (6 ч). Окраска по Нислю. Об. 100, ок. 10;

1 – морфологически не измененные нейроны с ядрышками,  
2 – морфологически измененные нейроны

**Fig. 2.** Pyramidal neurons of the hippocampal field of CA1 after continuous exposure to sevoflurane (6 h). Stained by Nissl. Lens 10, eyepiece 10;

1 – morphologically intact neurons with nucleoli,  
2 – morphologically changed neurons

измененных нейронов. В полях CA3 и CA4 гиппокампа число нейронов с двумя ядрышками и более достигало уровня значимости. В поле CA1 – снижалось до величин, близких к значимым, по сравнению с показателями в группе К. Стоит отметить, что материал для морфологического исследования забирался на 22-е сут после экспозиции севофлурана. Таким образом, функциональная активность нейронов, не погибших после анестезии и операции, не восстановилась в указанные сроки. Морфофункциональные изменения всех полей гиппокампа на фоне воздействия приводили к эмоциональному и когнитивному дефициту, что проявилось в ряде поведенческих тестов [2].

Данные морфометрии в данном исследовании сходны с ранее полученными результатами, показавшими негативное действие пропофола на гиппокампальную популяцию нервных клеток. При морфологическом анализе в поле CA1 в 2 раза увеличивалось количество гиперхромных нейронов и нейронов с явлениями хроматолиза по сравнению с группой контроля [6]. Однако стоит отметить, что признаков индукции апоптоза нейронов при этом не выявлено [7].

Исследование Т. Kawano et al. [20] продемонстрировало увеличение концентрации нейровоспалительных маркеров в гиппокампе старых особей крыс. Это сопровождалось наличием когнитивного дефицита спустя неделю после операции под общей анестезией. Данная и другие работы, а также результаты выполненного нами исследования в совокупности указывают на то, что именно нейро-

воспаление (учитывая небольшую травматичность операции, скорее всего вследствие прямого длительного действия анестетика) играет ключевую роль в морфологической перестройке гиппокампальных структур с последующим ухудшением когнитивных функций. Подобную трактовку можно увидеть и в других работах [8, 17].

Морфометрический анализ и изучение изменений гиппокампа в сочетании с поведенческими тестами целесообразно использовать для изучения эффектов анестетиков, вызываемых ими отдаленных последствий, а также для поиска средств коррекции возникающих нарушений поведения/когнитивных дисфункций. Понимание причин и механизмов развития как постоперационной, так и посттерапевтической когнитивной дисфункции приблизит к ее

эффективной профилактике и дифференцированному лечению.

### Вывод

Морфологическая перестройка гиппокампальных структур крыс после операции и анестезии может лежать в основе ухудшения когнитивных функций в послеоперационном периоде.

**Ограничения исследования.** Невозможность контроля газообмена у крыс во время эксперимента. Хотя признаки гипоксии отсутствовали (спокойное дыхание, нормальный цвет крови на разрезе, быстрое пробуждение и восстановление двигательной активности), данный фактор в полной мере не исключен.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка комплекса мер по профилактике послеоперационных когнитивных расстройств и делирия на основе изучения роли в их генезе нейровоспаления, обусловленного операцией и анестезией», № государственной регистрации 115091630050.

**Conflict of Interests.** The authors state that they have no conflict of interests. The research has been performed within State Order on Development of Measures on Prevention of Postoperative Cognitive Disorders and Delirium through Studying of Their Role in Neuroinflammation Genesis, Caused by Surgery and Anesthesia, State Registration no. 115091630050.

### ЛИТЕРАТУРА

- Белова А. Н., Прусакова Ж. Б., Загреков В. И., Ежевская А. А. Болезнь Альцгеймера и анестезия // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 8. – С. 7–13.
- Белозерцева И. В., Драволлина О. А., Кривов В. О., Тур М. А., Мус Л. В., Полушин Ю. С. Послеоперационные изменения поведения крыс, получавших анестезию севофлураном // Вестн. анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 1, № 2. – С. 55–62.
- Белозерцева И. В., Драволлина О. А., Тур М. А. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова / под ред. Э. Э. Звартау. – 2-е изд. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2014. – 79 с.
- Козловский С. А. Роль областей цингулярной коры в функционировании памяти человека // Экспериментальная психология. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 12–22.
- Лобзин В. Ю. Сосудисто-нейродегенеративные когнитивные нарушения (патогенез, клинические проявления, ранняя и дифференциальная диагностика): Дис. ... д-ра мед. наук. – ВМедА, 2016. – 44 с.
- Лобов М. А., Овезов А. М., Пантелеева М. В. и др. Патологические и морфологические основы церебропротекции в периоперационном периоде // Сб. материалов научно-практической конференции «Современные аспекты лечения заболеваний нервной системы». – Тверь, 2010. – С. 28–34.
- Овезов А. М. Послеоперационная когнитивная дисфункция и принципы церебропротекции в современной анестезиологии: Учебное пособие для врачей / под ред. А. М. Овезова. – М.: Тактик-Студио, 2013. – 56 с.
- Овезов А. М., Князев А. В., Пантелеева М. В. и др. Послеоперационная энцефалопатия: патологические и морфологические основы профилактики при общем обезболивании // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 61–66.
- Овезов А. М., Пантелеева М. В., Князев А. и др. Нейротоксичность общих анестетиков: современный взгляд на проблему // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2015. – Т. 7, № 4. – С. 78–82.
- Поваров И. С. Пептидергическая модуляция синаптической передачи в гиппокампе: Дис. ... канд. биол. наук. – М., 2015. – 145 с.
- Bianchi S.L., Tran T., Liu C. et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics // Neurobiol. Aging. – 2007. – № 29. – P. 1002–1010.

### REFERENCES

- Belova A.N., Prusakova Zh.B., Zagrekov V.I., Ezhevskaya A.A. Alzheimer's disease and anesthesia. *Uspехи Sovremen. Estestvoznaniya*, 2015, no. 8, pp. 7-13. (In Russ.)
- Belozertseva I.V., Dravolina O.A., Krivov V.O., Tur M.A., Mus L.V., Polushin Yu.S. Postoperative changes in the behavior of rats after anesthesia with sevoflurane. *Vestn. Anesteziologii i Reanimatologii*, 2017, vol. 1, no. 2, pp. 55-62. (In Russ.)
- Belozertseva I.V., Dravolina O.A., Tur M.A. *Rukovodstvo po ispolovaniyu laboratornykh zhivotnykh dlya nauchnykh i uchebnykh tseley v PSPbGMU im. I. P. Pavlova*. [Manual on laboratory animals use for research and training purposes in Pavlov First Saint Petersburg State Medical University]. Ed. by E.E. Zwartau, 5th ed., St. Petersburg, Izdatelstvo SPbGMU Publ., 2014, 79 p.
- Kozlovskiy S.A. Role of cingular cortical fields in the functional human memory. *Ekspериментальная Psikhologiya*, 2012, vol. 5, no. 1, pp. 12-22. (In Russ.)
- Lobzin V.Yu. *Sosudisto-neyrodegenerativnye kognitivnye narusheniya (patogenez, klinicheskie proyavleniya, rannyya i differentsial'naya diagnostika)*. Diss. dokt. med. nauk. [Vascular neurodegenerative disorders (pathogenesis, clinical manifestations, early and differential diagnostics). Doct. Diss.]. VMedA Publ., 2016, 44 p.
- Lobov M.A., Ovezov A.M., Panteleeva M.V. et al. Pathophysiological and morphological basics of cerebral protection in the peri-operative period. *Sb. materialov nauchno-prakticheskoy konferentsii Sovremennyye aspekty lecheniya zabolevaniy nervnoy sistemy*. [Abst. Book of Scientific Research Conference on Current Aspects of Nervous Disorders Management]. Tver, 2010, pp. 28-34. (In Russ.)
- Ovezov A.M. *Posleoperatsionnaya kognitivnaya disfunktsiya i printsipy tserebroprotektzii v sovremennoy anesteziologii. Uchebnoe posobie dlya vrachev*. [Post-operative cognitive dysfunction and principles of cerebral protection in the modern anesthesiology: Doctors' Handbook]. Ed. by A.M. Ovezov, Moscow, Taktik-Studio Publ., 2013, 56 p.
- Ovezov A.M., Knyazev A.V., Panteleeva M.V. et al. Post-operative encephalopathy: pathophysiological and morphological prevention basics in general anesthesia. *Nevrologiya, Neyropsikhiatriya, Psikhosomatika*, 2015, vol. 7, no. 2, pp. 61-66. (In Russ.)
- Ovezov A.M., Panteleeva M.V., Knyazev A. et al. Neurotoxicity of general anesthetics: current view of the problem. *Nevrologiya, Neyropsikhiatriya, Psikhosomatika*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 78-82. (In Russ.)
- Povarov I.S. *Peptidergicheskaya modulyatsiya sinapticheskoy peredachi v gippokampe*. Dis. kand. biol. nauk. [Peptidergic modulation of synaptic transmission in hippocampus. Cand. Diss.]. Moscow, 2015, 145 p.
- Bianchi S.L., Tran T., Liu C. et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics. *Neurobiol. Aging*, 2007, no. 29, pp. 1002-1010.

12. Brambrink A. M., Evers A. S., Avidan M. S. et al. Isoflurane-induced Neuroapoptosis in the Neonatal Rhesus Macaque Brain // *Anesthesiology*. – 2010. – № 112. – P. 834–841.
13. Dietrich J., Monje M., Wefel J. et al. Clinical patterns and biological correlates of cognitive dysfunction associated with cancer therapy // *Oncologist*. – 2008. – № 13. – P. 1285–1295.
14. Gauthier S. et al. Management of behavioral problems in Alzheimer's disease // *Int. psychogeriatr.* – 2010. – № 22. – P. 346–372.
15. Gutierrez A. N. et al. Whole brain radiotherapy with hippocampal avoidance and simultaneously integrated brain metastases boost: a planning study // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2007. – Vol. 69 (2). – P. 589–597.
16. Hofacer R. D., Deng M., Ward C. G. et al. Cell age-specific vulnerability of neurons to anesthetic toxicity // *Ann. Neurol.* – 2013. – № 73 (6). – P. 695–704. doi: 10.1002/ana.23892.
17. Hovens I. B., van Leeuwen B. L., Nyakas C. et al. Postoperative cognitive dysfunction and microglial activation in associated brain regions in old rats // *Neurobiol. Learn. Mem.* – 2015. – № 118. – P. 74–79. doi: 10.1016/j.nlm.2014.11.009.
18. 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 // *Neurosci.* – 2003. – № 23. – P. 876–882.
19. Johnson S. A., Young C., Olney J. W. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of non-hypoglycemic mice // *J. Neurosurg. Anesth.* – 2008. – № 20. – P. 21–28.
20. Kawano T., Eguchi S., Iwata H. et al. Impact of preoperative environmental enrichment on prevention of development of cognitive impairment following abdominal surgery in a rat model // *Anesthesiology*. – 2015. – Vol. 123 (1). – P. 160–170.
21. Krzisch M., Sultan S., Sandell J. et al. Propofol anesthesia impairs the maturation and survival of adult-born hippocampal neurons // *Anesthesiology*. – 2013. – Vol. 118 (3). – P. 602–610.
22. Lin E. P., Soriano S. G., Loepke A. W. Anesthetic neurotoxicity // *Anesthesiol Clin.* – 2014. – Vol. 32 (1). – P. 133–155. doi: 10.1016/j.anclin.2013.10.003.
23. Monk T. G., Weldon B. C., Garvan C. W. et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery // *Anesthesiology*. – 2008. – № 108. – P. 18–30.
24. Motulsky H. J. Common misconceptions about data analysis and statistics // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* – 2014. – № 387. – P. 1017–1023. doi 10.1007/s00210-014-1037-6.
25. Paxinos G., Watson C. The rat Brain in Stereotaxic Coordinates – 6th edition. – Academic Press. – 2007. – № 6. – P. 456.
26. Perry A., Schmidt R. E. Cancer therapy-associated CNS neuropathology: An update and review of the literature // *Acta Neuropathol.* – 2006. – № 111. – P. 197–212.
27. Soussain C., Ricard D., Fike J. R. et al. CNS complications of radiotherapy and chemotherapy // *Lancet*. – 2009. – Vol. 7, 374 (9701). – P. 1639–1651.
28. Tangpong J., Cole M. P., Sultana R. et al. Adriamycin-mediated nitration of manganese superoxide dismutase in the central nervous system: insight into the mechanism of chemobrain // *J. Neurochem.* – 2007. – Vol. 100 (1). – P. 191–201.
29. Van De Werd H. J. J. M., Rajkowska G., Evers P., Harry B. M. Uylings. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse // *Brain Structure and Function*. – 2010. – P. 339–353.
30. Xie H., She G.-M., Wang C., Zhang L.-Y., Liu C.-F. The gender difference in effect of sevoflurane exposure on cognitive function and hippocampus neuronal apoptosis in rats // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2015. – № 19. – P. 647–657.
31. Xie W., Yang Y., Gu X., Zheng Y., Sun Y. et al. Senegenin attenuates hepatic ischemia-reperfusion induced cognitive dysfunction by increasing hippocampal NR2B expression in rats // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7 (9). – P. 45575.
32. Zhao C., Deng W., Gage F. H. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. // *Cell*. – 2008. – Vol. 132. – P. 645–660.
33. 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. – Vol. 27. – P. 727–731.
12. Brambrink A.M., Evers A.S., Avidan M.S. et al. Isoflurane-induced Neuroapoptosis in the Neonatal Rhesus Macaque Brain. *Anesthesiology*, 2010, no. 112, pp. 834-841.
13. Dietrich J., Monje M., Wefel J. et al. Clinical patterns and biological correlates of cognitive dysfunction associated with cancer therapy. *Oncologist*, 2008, no. 13, pp. 1285-1295.
14. Gauthier S. et al. Management of behavioral problems in Alzheimer's disease. *Int. psychogeriatr.*, 2010, no. 22, pp. 346-372.
15. Gutierrez A.N. et al. Whole brain radiotherapy with hippocampal avoidance and simultaneously integrated brain metastases boost: a planning study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2007, vol. 69(2), pp. 589-597.
16. Hofacer R.D., Deng M., Ward C.G. et al. Cell age-specific vulnerability of neurons to anesthetic toxicity. *Ann. Neurol.*, 2013, no. 73 (6), pp. 695–704. doi: 10.1002/ana.23892.
17. Hovens I.B., van Leeuwen B.L., Nyakas C. et al. Postoperative cognitive dysfunction and microglial activation in associated brain regions in old rats. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 2015, no. 118, pp. 74–79. doi: 10.1016/j.nlm.2014.11.009.
18. 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. *Neurosci.*, 2003, no. 23, pp. 876-882.
19. Johnson S.A., Young C., Olney J.W. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of non-hypoglycemic mice. *J. Neurosurg. Anesth.*, 2008, no. 20, pp. 21-28.
20. Kawano T., Eguchi S., Iwata H. et al. Impact of preoperative environmental enrichment on prevention of development of cognitive impairment following abdominal surgery in a rat model. *Anesthesiology*, 2015, vol. 123(1), pp. 160-170.
21. Krzisch M., Sultan S., Sandell J. et al. Propofol anesthesia impairs the maturation and survival of adult-born hippocampal neurons. *Anesthesiology*, 2013, vol. 118(3), pp. 602-610.
22. Lin E.P., Soriano S.G., Loepke A.W. Anesthetic neurotoxicity. *Anesthesiol Clin.*, 2014, vol. 32(1), pp. 133–155. doi: 10.1016/j.anclin.2013.10.003.
23. Monk T.G., Weldon B.C., Garvan C.W. et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *Anesthesiology*, 2008, no. 108, pp. 18-30.
24. Motulsky H.J. Common misconceptions about data analysis and statistics. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 2014, no. 387, pp. 1017–1023. doi 10.1007/s00210-014-1037-6.
25. Paxinos G., Watson C. The rat Brain in Stereotaxic Coordinates – 6th edition. *Academic Press*, 2007, no. 6, pp. 456.
26. Perry A., Schmidt R.E. Cancer therapy-associated CNS neuropathology: An update and review of the literature. *Acta Neuropathol.*, 2006, no. 111, pp. 197-212.
27. Soussain C., Ricard D., Fike J.R. et al. CNS complications of radiotherapy and chemotherapy. *Lancet*, 2009, vol. 7, 374 (9701), pp. 1639-1651.
28. Tangpong J., Cole M.P., Sultana R. et al. Adriamycin-mediated nitration of manganese superoxide dismutase in the central nervous system: insight into the mechanism of chemobrain. *J. Neurochem.*, 2007, vol. 100(1), pp. 191-201.
29. Van De Werd H.J.J.M., Rajkowska G., Evers P., Harry B.M. Uylings. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain Structure and Function*. 2010, pp. 339-353.
30. Xie H., She G.-M., Wang C., Zhang L.-Y., Liu C.-F. The gender difference in effect of sevoflurane exposure on cognitive function and hippocampus neuronal apoptosis in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2015, no. 19, pp. 647-657.
31. Xie W., Yang Y., Gu X., Zheng Y., Sun Y. et al. Senegenin Attenuates Hepatic Ischemia-Reperfusion Induced Cognitive Dysfunction by Increasing Hippocampal NR2B Expression in Rats. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7(9), pp. 45575.
32. Zhao C., Deng W., Gage F.H. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell*, 2008, vol. 132, pp. 645-660.
33. 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, vol. 27, pp. 727-731.

**ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:**

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет  
им. акад. И. П. Павлова МЗ РФ»,  
197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8.

**Юкина Галина Юрьевна**

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией  
патоморфологии отдела патологии НИЦ, доцент кафедры  
гистологии.

**Томсон Владимир Викторович**

доктор медицинских наук, профессор кафедры  
патологической анатомии, директор НИЦ.

**Полушин Юрий Сергеевич**

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,  
заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии,  
проректор по научной работе.

**Белозерцева Ирина Владимировна**

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией  
экспериментальных доклинических исследований с  
виварием Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.

**Полушин Алексей Юрьевич**

кандидат медицинских наук, научный сотрудник  
научно-клинического центра анестезиологии и  
реаниматологии, ассистент кафедры неврологии.

**Кривов Владислав Олегович**

анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и  
реанимации научно-клинического центра анестезиологии и  
реаниматологии.

**Янишевский Станислав Николаевич**

ФГБ ВОУ «Военно-медицинская академия  
им. С. М. Кирова»,  
доктор медицинских наук,  
доцент кафедры нервных болезней.  
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6.

**FOR CORRESPONDENCE:**

*Pavlov First Saint Petersburg  
State Medical University,  
6/8, Lva Tolstogo St.,  
St. Petersburg, 197022*

**Galina Yu. Yukina**

*Candidate of Biological Sciences, Head of Pathoanatomy  
Laboratory within Pathology Department of Research Center,  
Associate Professor of Histology Department.*

**Vladimir V. Tomson**

*Doctor of Medical Sciences, Professor of Anatomical Pathology  
Department, Director of Research Center*

**Yury S. Polushin**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, RAS Academician,  
Head of Anesthesiology and Intensive Care Department,  
Vice Rector for Research.*

**Irina V. Belozertseva**

*Candidate of Biological Sciences,  
Head of Laboratory for Experimental Preclinical Trials with  
Vivarium of Valdman Pharmacology Institute.*

**Aleksey Yu. Polushin**

*Candidate of Medical Sciences, Researcher of Research Clinical  
Center of Anesthesiology and Intensive Care,  
Assistant of Neurology Department.*

**Vladislav O. Krivov**

*Anesthesiologist and Intensive Physician of Anesthesiology  
and Intensive Care Department of Research Clinical Center  
of Anesthesiology and Intensive Care.*

**Stanislav N. Yanishevskiy**

*S.M. Kirov Military Medical Academy,  
Doctor of Medical Sciences,  
Associate Professor of Neuropathology Department.  
6, Academician Lebedev St.,  
St. Petersburg, 194044.*