

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ У КРЫС

И. В. БЕЛОЗЕРЦЕВА, О. А. ДРАВОЛИНА, В. О. КРИВОВ, М. А. ТУР, Ю. С. ПОЛУШИН

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова Минздрава РФ», г. Санкт-Петербург

Цель: разработать дизайн эксперимента для оценки когнитивных функций и поведения крыс после агрессивных воздействий, имитирующих анестезию и операцию в клинической практике.

Методика: с использованием самцов крыс стока Вистар ($n = 40$) оценивали долгосрочные поведенческие эффекты операции на органах брюшной полости и/или краткосрочного (15–20 мин) и длительного (6 ч) воздействия галотана. Использовали простой (2×2) факторный план эксперимента (4 блока, сбалансированные по количеству животных из 4 экспериментальных групп, $n = 2$ для каждой группы в блоке). Для индукции анестезии применяли 4 об. % галотана в потоке воздуха (2 л/мин), для поддержания анестезии – 1,5 об. % галотана. Для выполнения операции крысу размещали на подогреваемом операционном столике и поддерживали анестезию с помощью маски. Производили лапаротомию, выделяли тощую кишку, которую в течение 10 с раздражали массирующими движениями указательного и большого пальцев. После этого петлю опускали в брюшную полость, рану послойно ушивали. Далее в течение 3 нед. по протоколу выполняли поведенческие тесты: оценивали двигательную («Актометр») и исследовательскую активность в обстановке новизны («Открытое поле»), социальное поведение (тест парного взаимодействия), распознавание нового объекта, скорость экстраполяционного извлечения, форсированное плавание, половое поведение. В качестве стандартных оппонентов в тесте социального взаимодействия использовали овариэктомированных самок крыс ($n = 16$), а в тесте полового поведения – гормонально стимулированных самок ($n = 26$).

Результаты показали, что длительное воздействие паров галотана вызывает изменения поведения крыс: снижает социальное исследование, уменьшает индекс распознавания новых объектов, увеличивает неподвижность в тесте форсированного плавания и уменьшает латентный период экстраполяционного извлечения. Воздействие галотана значимо не влияло на двигательную активность («открытое поле») и половое поведение самцов крыс. В целом результаты выполненных тестов свидетельствуют о развитии у крыс эмоционального уплощения вследствие длительной экспозиции галотана.

Вывод. Опробованные в настоящем исследовании дизайн эксперимента и батарею поведенческих тестов целесообразно использовать для экспериментальной оценки эффектов ингаляционных анестетиков, вызываемых ими отдаленных последствий, а также для поиска средств коррекции возникающих нарушений поведения.

Ключевые слова: галотан, фторотан, операция на органах брюшной полости, нарушения поведения, самцы крыс стока Вистар.

EXPERIMENTAL SIMULATION OF POST-OPERATIVE COGNITIVE DISORDERS IN RATS

I. V. BELOZERTSEVA, O. A. DRAVOLINA, V. O. KRIVOV, M. A. TUR, YU. S. POLUSHIN

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russian Ministry of Health, St. Petersburg, Russia

Goal: to develop the design of the experiment for evaluation of cognitive functions and behavior of rats after some aggressive impact imitating anesthesia and surgery in the clinical practice.

Methods: Male rats of Wistar stock ($n = 40$) were used to evaluate long-term behavioral effects of the abdomen surgery and short-term (15-20 min.) and long-term (6 hours) actions of halothane. Simple (2×2) factorial plan was used for the experiment (4 blocks, balanced as per the number of animals from 4 experimental groups, $n=2$ for each group in the block). For anesthesia induction 4 volumes of % halothane in the air flow (2 l/min) were used, for anesthetic support it was 1.5 volume of % halothane. During surgery the rat was placed on the heated operating table and the mask was used for anesthesia. Laparotomy was performed; empty intestine was identified and irritated for 10 seconds by massage movement of the forefinger and thumb. After that the loop was placed into the abdomen and the wound was sutured layer by layer. Then for three weeks the following behavioral tests were performed in compliance with the protocol: motor activity (Actometer) and exploratory activity in new environment (Open field), social behavior (pair interaction test), novel object recognition, extrapolational deliverance rate, forced swimming, sexual behavior. Ovariectomized female ($n = 16$) were used as standard opponents for social behavior tests, and hormone-stimulated female rats ($n = 26$) were used for sexual behavior tests.

The results showed that long-term action of halothane vapor caused behavioral changes in rats: it reduces exploratory activity, decreases the novel object recognition index, increases immobility during forced swimming and reduces latent period of extrapolational deliverance. Halothane made no significant impact on motor activity (open field) and sexual behavior of male rats. In general the results of performed tests provide evidence of emotional flattening development in rats.

Conclusion: It is feasible to use the experiment design and pool of behavioral tests used in this study for experimental evaluation of inhalation anesthetics effects, their late consequences, and also for searching the ways of management of the developing behavioral disorders.

Key words: halothane, phthorothanum, abdomen surgery, behavioral disorders, male rats of Wistar stock.

Послеоперационная когнитивная дисфункция – хорошо известный синдром, развитие которого связывают с операцией, анестезией и послеоперационной интенсивной терапией, но точную причину в настоящее время назвать трудно. На основании клинических исследований сделать это особенно проблематично с учетом множества приводящих

факторов агрессии (прямое действие анестетика, нейровоспаление как проявление системного воспалительного ответа на травму, гипо- и гиперперфузионные воздействия на мозг и т. д.). В связи с этим моделирование послеоперационных когнитивных дисфункций на экспериментальных животных является актуальной задачей. Ограничением исследо-

ваний на животных является трудность их трансляции в клиническую практику, однако результаты экспериментов могут помочь дифференцировать причины и механизмы, на которых необходимо сосредоточить внимание при проведении клинических исследований.

Традиционно к группам риска послеоперационных когнитивных нарушений относят пациентов с истощенными или несовершенными когнитивными резервами. В связи с этим подавляющее большинство экспериментальных работ, оценивающих последствия общей анестезии, выполнены на детенышах крыс [14, 28], тогда как исследования на животных преклонного возраста (18 мес. и более) могут позволить себе немногие лаборатории. В связи с устойчивостью лабораторных крыс и мышей к развитию негативных последствий общей анестезии часто используются неадекватно высокие дозы/концентрации [14] или хроническая экспозиция животных с применением паров анестетиков (30–60 дней), которая не может адекватно отражать ситуации, существующие в клинической практике [11]. Исключение составляют работы, оценивающие потенциальный риск для здоровья от воздействия невысоких концентраций ингаляционных анестетиков и воспроизводящие условия, в которых работает персонал операционных клиник. Однако в этом случае использование животных в ранний постнатальный, а также в перинатальный период [29] не выглядит подходом, адекватным для трансляционных исследований. Существенным недостатком дизайна большинства экспериментальных исследований является оценка воздействия общей анестезии в отсутствие хирургического вмешательства, что исключает ключевой фактор, действующий в клинических условиях, – взаимодействие нейровоспаления вследствие хирургического вмешательства и ингибирующего действия анестезии [14]. Кроме того, экспериментальных работ, комплексно оценивающих изменения поведения животных, практически нет. Между тем тестирование поведения необходимо для расширения представления о возникающих нарушениях за пределы констатации морфологических изменений, поскольку они малозначимы, если не могут быть связаны с изменениями жизнедеятельности. Использование более сложных поведенческих тестов в фундаментальных исследованиях может повысить их клиническую значимость.

Цель: отработка дизайна исследования и экспериментальных процедур для оценки действия препаратов для ингаляционной анестезии на когнитивные функции и поведение крыс. Проведены опробование батареи поведенческих тестов для оценки когнитивных нарушений вследствие анестезии и/или операции и оценка эффекта длительной экспозиции галотана на поведение самцов крыс.

Материалы и методы

Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями руководства по использованию лабо-

раторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова [2]. При проведении большинства поведенческих тестов регистрацию поведения выполняли по видеозаписям с помощью программы Ethograph (версия 2.07, РИТЕК, Санкт-Петербург, Россия).

Животные. В экспериментах использовали самцов ($n = 40$) крыс стока Вистар (питомник лабораторных животных «Рапполово», Санкт-Петербург), которых сначала содержали в группах по 5 особей в течение 7 дней (адаптационный период) в клетках TIV (Tecniplast, Италия), а затем – в индивидуальных ТПН клетках (Tecniplast, Италия) на беспылевом наполнителе «Золотой кот», изготовленном из стержневой части початков кукурузы (ООО «ЗКК "Золотой початок"», Воронеж, Россия). В помещениях для содержания животных контролировали температуру воздуха ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), влажность ($50 \pm 20\%$) и световой цикл – 12 ч свет/12 ч темнота (включение света в 08:00). Крысы имели неограниченный доступ к стандартному полнорационному комбикорму (ПК 120-1, «Лабораторснаб», Москва, Россия) и фильтрованной (AQUAPHOR®, Санкт-Петербург, Россия) водопроводной воде, за исключением времени проведения тестов. За 12 ч до наркотизации животных депривировали от корма. Основания клеток, подстилочный материал и бутылочки с водой меняли 2 раза в неделю. Самок крыс стока Вистар ($n = 42$), используемых в качестве «стандартных оппонентов» в тестах социального и/или полового взаимодействия, содержали в группах в отдельном от самцов помещении, где поддерживали аналогичные стандартные условия. Как минимум за 4 нед. до выполнения теста парного взаимодействия часть самок овариэктомировали, обеспечивая доступ к яичникам с брюшной стороны.

Дизайн исследования. Для проверки гипотезы о взаимодействии двух переменных «Экспозиция» и «Операция» использовали простой (2×2) факторный план с рандомизированными блоками, в соответствии с которым самцов крыс в случайном порядке распределяли в 4 экспериментальные группы.

Группа «Контроль» (1): крыс помещали в индивидуальные боксы для индукции на 5 мин (максимальная длительность ограничения движений до введения в анестезию).

Группа «Операция» (2): операцию на органах брюшной полости выполняли с минимальной необходимой длительностью нахождения под анестезией (15–20 мин).

Группа «Экспозиция» (3): животные находились под общей анестезией в течение 6 ч в тех же условиях, что и следующая группа.

Группа «Экспозиция + Операция» (4): операцию на органах брюшной полости выполняли в первую половину длительной экспозиции, после чего крысу возвращали в камеру для наркотизации, где она находилась до достижения общей длительности экспозиции – 6 ч.

Выполнено 4 блока экспериментов (длительность эксперимента – 30 дней), каждый из которых был сбалансирован по количеству животных ($n = 2$) из разных экспериментальных групп во избежание влияния неучитываемых факторов на результаты тестов.

Анестезия и хирургическое вмешательство. Крыс из групп № 2–4 помещали в индивидуальные боксы ($21 \times 13 \times 9$ см) с перфорированными стенками и сетчатой крышкой. Далее боксы размещали в пластиковом контейнере ($50 \times 32 \times 14$ см), подключенном к наркозному аппарату с испарителем Varog 2000 (Dräger, Германия), и системе принудительной вентиляции. Для индукции анестезии применяли 4 об. % галотана («Фторотан» (Phthorothanum); ОАО «Алтайхимпром», Яровое, Россия) в потоке воздуха (2 л/мин), для поддержания анестезии – 1,5 об. % галотана.

Для выполнения операции (группы № 2 и 4) крысу размещали на подогреваемом операционном столике и поддерживали анестезию с помощью маски. 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. После этого петлю опускали в брюшную полость, рану послойно ушивали и обрабатывали антибактериальной присыпкой «Эдис» (ООО «Агросервис», Воронеж), содержащей стрептоцид (500 мг/1 г) и йодоформ (100 мг/1 г). По завершении операции крысу возвращали в затравочный бокс (группа № 4) или помещали в домашнюю клетку (группа № 2).

Тест двигательной активности для оценки постнаркозной депрессии выполняли через 15 мин после выхода крыс из анестезии. Животных на 180 мин помещали в освещаемые тусклым светом боксы ($25 \times 35,5 \times 34$ см) оригинальной установки «Актометр». С помощью фотодатчиков и программного обеспечения MED-PC (MED Associates, Inc., St. Albans, VT, США) регистрировали горизонтальную (только последовательные пересечения датчиков нижнего ряда) и вертикальную (количество пересечений датчиков верхнего ряда) двигательную активность.

Тест «открытое поле» выполняли по окончании периода восстановления животных после операции (день 5). Крыс высаживали в угол квадратной (120×120 см) белой арены, ограниченной черными стенками ($h = 35$ см) и разделенной на 16 квадратов (30×30 см), во «внутренних» углах которых имелись круглые отверстия ($d = 35$ мм, $n = 9$). Освещенность арены составляла 150 лк. Далее в течение 8 мин поведение крыс записывали на видеокамеру, а после каждого теста подсчитывали количество оставленных ими фекальных болюсов (индекс эмоциональности) и протирали арену 3%-ным водным раствором H_2O_2 для устранения запахов.

При обработке видеозаписей регистрировали время пребывания животных в разных частях установки (в контакте со стенками – проявление тигмотаксиса, на периферийных или центральных квадратах), а также последовательность и длительность элементов индивидуального поведения (перемещения, подъемы на задние лапы, сидение, принюхивание, груминг, заглядывания в отверстия и пр.).

Тест социального (парного) взаимодействия. Социальное поведение крыс оценивали в ситуации «резидент-интродер» через 6 и 20 дней после анестезии/операции. В качестве «стандартного оппонента» использовали незнакомую овариэктомированную самку, которую подсаживали в клетку экспериментального животного. Поведение крыс записывали на видеокамеру (8 мин) и далее регистрировали последовательность и длительность 40 элементов поведения: индивидуального (локомоция, сидение, принюхивание, подъемы на задние лапы, груминг, грызение корма и пр.) и социального (обнюхивания партнера, груминг тела партнера, противостояние, угрозы, атаки и пр.).

Тест распознавания нового объекта выполняли в 4 этапа на днях 6–8 после анестезии/операции: (1) привыкание к экспериментальным условиям (день 6, 60 мин); (2) ознакомление с двумя одинаковыми объектами (день 7, 10 мин); предъявление нового объекта № 1 (день 7, через 1 ч после 2-го этапа, 10 мин); предъявление нового объекта № 2 (день 8, через 24 ч после 3-го этапа, 10 мин). Поведение животных записывали на видеокамеру. Экспериментальная камера представляла собой бокс из прозрачного поликарбоната размером $45 \times 34 \times 40$ см ($L \times W \times H$), дно которой не покрывали подстилочным материалом, а в углах (по диагонали) в 8 см от стенок размещали объекты – стальные навесные кормушки и/или стеклянные бутылочки объемом 250 мл. При обработке видеозаписей фиксировали общее время (с), потраченное на изучение каждого объекта (обнюхивание, лизание, касание объекта или подход к нему на расстояние < 1 см). Для оценки распознавания объекта рассчитывали индекс предпочтения [21] – отношение времени, потраченного на изучение нового объекта, ко времени, потраченному на изучение обоих объектов.

Тест экстраполяционного избавления выполняли для оценки когнитивных функций животных в условиях острого стресса. В отличие от традиционно используемой экспериментальной установки [3] – полого цилиндра ($d = 10$ см), опущенного на 2,5 см в заполненную на 20 см водой емкость ($d = 35$ см), установка была дополнена вертикальной лестницей, позволяющей животному самостоятельно выбраться из «большого» бассейна и избежать дополнительного аверсивного воздействия захвата рукой. Адаптивное поведение крыс оценивали в 3 экспериментальных сессиях: (1) обучение и закрепление навыка «избавления» (день 12 – 3 посадки в цилиндр с интервалом в 15 мин); (2) проверка навыка № 1 (день 13 – однократная посадка через 24 ч); (3) про-

верка навыка № 2 (день 19 – однократная посадка через 7 дней после первой экспериментальной сессии и прохождения двухдневной процедуры теста форсированного плавания).

Крысу аккуратно помещали в центральную трубку установки ногами вниз и записывали ее поведение на видеокамеру до момента появления животного на крышке установки или по истечении 3 мин. Замену воды ($t = 24^{\circ}\text{C}$) производили после каждой крысы, при этом подсчитывали количество оставленных животным фекальных болюсов. При статистической обработке анализировали латентные периоды подныривания, выхода на лестницу и крышку, а также длительность пребывания в «трубе», в основном водном пространстве и на лестнице установки.

Тест форсированного плавания выполняли в оргстеклянных цилиндрах ($d = 20\text{ см}$; $h = 45\text{ см}$), которые заполняли водой ($t = 24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) до глубины 30 см. Использовали «классический» двухдневный протокол теста [22], при этом поведение анализировали как в первый день (этап выработки состо-

яния «поведенческого отчаяния» – 15 мин), так и на следующий день (этап оценки депрессивноподобного состояния – 5 мин). После каждого теста подсчитывали количество находящихся в воде фекальных болюсов и осуществляли замену воды и мытье цилиндра для устранения «ольфакторных сигналов тревоги» [5]. После теста крыс оборачивали полотенцем и измеряли ректальную температуру с помощью Thermalert TH-5 (Physitemp Instruments, Inc. Clifton, NJ, США), а затем помещали в клетку с чистым подстилом и бумажными полотенцами. Обработывая видеозаписи, анализировали частоту и/или длительность следующих категорий и элементов поведения: (1) неподвижность (дрейфование – отсутствие движений лап, кроме необходимых для поддержания головы на поверхности воды); (2) подвижность – плавание (перемещение в воде с вовлечением четырех конечностей), перемещение («гребля» – перемещение с помощью ритмичных движений задних конечностей с отталкиванием от стенок сосуда для изменения скорости и направления); карабкание на

Таблица 1. Базовый протокол экспериментального исследования по оценке влияния ингаляционных анестетиков на поведение крыс

Table 1. Basic protocol of experimental study for evaluation of inhalation anesthetics on rats' behavior

Экспериментальные животные: самцы крыс стока Вистар Условия содержания: индивидуальное (частичная социальная изоляция) Экспериментальные группы: 4 группы в соответствии с факторным планом 2×2 (фактор «Экспозиция» (6 ч): есть/нет; фактор «Операция»: есть/нет)		
День	Процедуры/тесты	Назначение
-6	Рассаживание в индивидуальные клетки	Габитуация к условиям содержания в эксперименте и отбор животных
-5-2	-	
-1	Депривация от корма	Подготовка к операции (за 12 ч)
0	Экспозиция (6 ч)/операция	Оцениваемое экспериментальное воздействие
	«Актометр» (180 мин)	Оценка постнаркозной депрессии
1-4	-	Восстановление после операции
5	«Открытое поле» (10 мин)	Оценка исследовательской и двигательной активности, уровня тревожности в условиях умеренного стресса новизны обстановки
6	«Социальное взаимодействие» (8 мин)	Оценка общительности, уровня агрессивности/тревожности
	«Распознавание объектов» (60 мин)	Привыкание к экспериментальной установке
7	«Распознавание объектов» (10 мин \times 2)	Оценка запоминания ранее предъявленного объекта (память)
8	«Распознавание объектов» (10 мин)	
9-11	-	-
12	Модифицированный тест «Экстраполяционное избавление» (3 посадки по 3 мин)	Оценка экстраполяционных способностей и скорости обучения в условиях острого эмоционального стресса
13	«Экстраполяционное избавление» (3 мин)	Оценка воспроизведения ранее выученной реакции (память)
14	«Форсированное плавание» (15 мин)	Оценка острой реакции (уровень депрессивности) на аверсивное воздействие среды
15	«Форсированное плавание» (5 мин)	Оценка «депрессивности»
16-18	-	-
19	«Экстраполяционное избавление» (3 мин)	Оценка воспроизведения ранее выученной реакции (память)
20	«Социальное взаимодействие» (8 мин)	Оценка динамики изменения общительности, уровня агрессивности/тревожности
21	«Половое поведение» (100 мин)	Оценка репродуктивных функций и устойчивости к стрессирующим воздействиям экспериментальных процедур
22	Эвтаназия	

стенку (интенсивные движения всех конечностей с выбросом передних лап над поверхностью воды); ныряние (перемещения по направлению к дну цилиндра – поведение избегания); (3) комфортное поведение – отряхивание (интенсивные движения головой с целью удаления воды из ушей и глаз) и вытирание (удаление воды с морды с помощью передних лап).

Половое поведение самцов крыс оценивали на день 21 эксперимента в течение 100 мин. В качестве сексуального партнера использовали самку крыс стока Вистар, которой за 50 ч до теста подкожно вводили масляный раствор эстрадиола дипропионата (50 мкг/животное), а за 5 ч до теста – прогестерон (50 мг/животное). Перед тестом самцов размещали в экспериментальных боксах (25 × 35,5 × 34 см) на 30 мин для габитуации к экспериментальной камере и условиям приглушенного освещения. Затем подсаживали самку и регистрировали латентный период и количество попыток садки, садок с интродукцией и садок с эякуляцией, определяемых по характерным стереотипным позам [1].

Базовый протокол экспериментального исследования в целом представлен в табл. 1.

Статистическая обработка. Использовали пакет статистических программ SigmaPlot (версия 12.5, Systat Software Inc., Chicago, IL, США): выполняли двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими *post hoc* сравнениями (тест Бонферрони). Различия считали значимыми

при $p < 0,05$. Для сравнения латентных периодов наступления оцениваемой реакции (например, в тестах экстраполяционного избавления и полового поведения) использовали анализ выживаемости Каплана – Майера, позволяющий принимать во внимание цензурированные данные [26], то есть учитывать показатели животных, поведенческая реакция которых не происходила до окончания теста. В соответствии с последними рекомендациями для графического представления экспериментальных данных были использованы «ящички с усами», которые, в отличие от использования средних и ошибок средних, позволяют адекватно оценивать разброс экспериментальных данных [18].

Результаты и обсуждение

Во время экспозиции галотана смертность крыс в группе «Экспозиция + Операция» ($n = 10$) составляла 50%, тогда как в других экспериментальных группах летальность не была отмечена. Эффект сочетанного воздействия факторов «Экспозиция» и «Операция» был значимым ($\chi^2 = 8,84$; $df = 2$, $P = 0,012$).

Двигательная активность («Актометр»). Горизонтальная и вертикальная двигательная активность крыс через 15 мин после анестезии и/или операции была угнетена по сравнению с контрольной группой, однако различий в активности животных экспериментальных групп не выявлено (рис. 1).

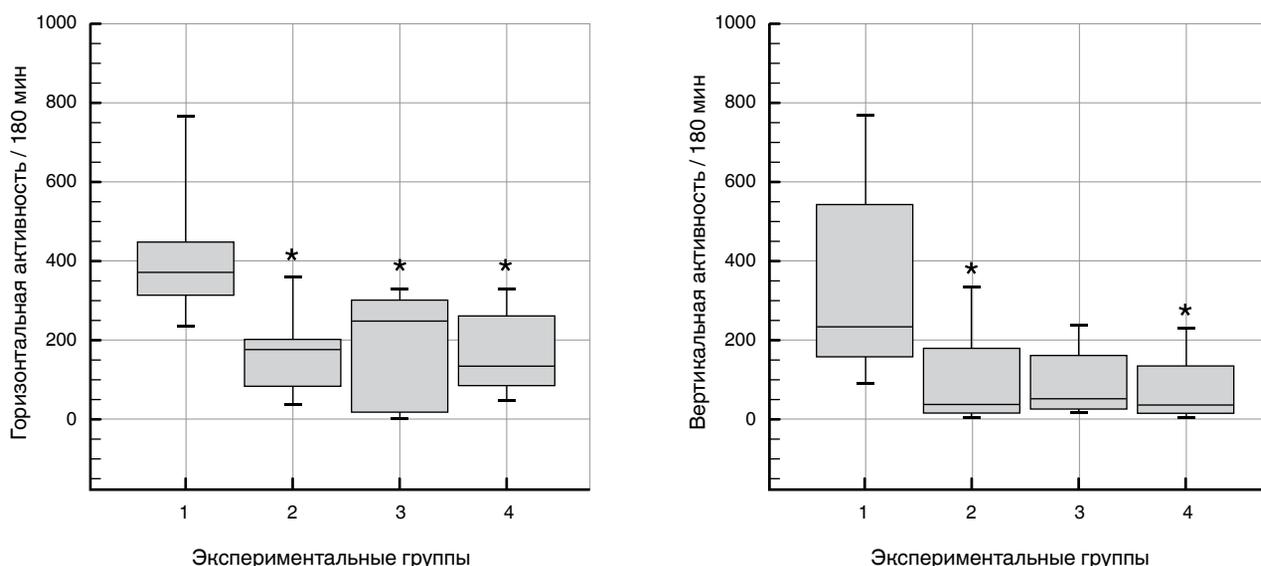


Рис. 1. Горизонтальная (левая панель) и вертикальная (правая панель) двигательная активность крыс (начало теста через 15 мин после прекращения анестезии/подачи анестетика, длительность теста 180 мин). Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают медиану и 25-й/75-й процентиля, а «усы» – 10-й и 90-й процентиля. Экспериментальные группы: 1 – «Контроль» ($n = 9$); 2 – «Операция» ($n = 8$); 3 – «Экспозиция» ($n = 6$); 4 – «Экспозиция + Операция» ($n = 5$). * $P < 0,05$ – значимые отличия от показателя контрольной группы (тест Даннетта)

Fig. 1. Horizontal (left panel) and vertical (right panel) motor activity of rats (the test started in 15 minutes after anesthesia cessation/anesthetic supply, the test lasted for 180 minutes).

The data are presented as box-and-whisker diagram, where boxes show the median and the 25th/75th percentiles, and whiskers - the 10th and 90th percentiles. Experimental groups: 1 – «Control» ($n = 9$); 2 – «Surgery» ($n = 8$); 3 – «Exposure» ($n = 6$); 4 – «Exposure + Surgery» ($n = 5$).

* $P < 0.05$ – significant differences from the rate in control group (Dunnett's test)

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние фактора «Экспозиция» ($F(1,24) = 4,51$; $P = 0,044$) и фактора «Операция» ($F(1,24) = 6,49$; $P = 0,018$) на горизонтальную двигательную активность (перемещение) крыс, а также близкое значимому влияние взаимодействия этих факторов ($F(1,24) = 4,16$; $P = 0,053$). Для вертикальной двигательной активности также было выявлено значимое влияние данных факторов ($F(1,24) = 4,55$; $P = 0,036$ – для фактора «Экспозиция»; $F(1,24) = 4,38$; $P = 0,047$ – для фактора «Операция»). Влияние взаимодействия этих факторов не достигало уровня значимости ($F(1,24) = 3,11$; $P = 0,09$).

Тест «открытое поле». При выполнении данного теста по окончании периода восстановления не обнаружено значимых отличий ни по одному из учитываемых показателей двигательной и исследовательской активности крыс (данные не представлены). Ранее было показано, что анестезия галотаном в течение 1 ч не влияет на локомоторную активность Sprague – Dawley крыс в данном тесте [8], тогда как продолжительная (30 дней по 4 ч в день) экспозиция галотана в субанестетических концентрациях (0,1%, скорость потока – 3 л/мин) вызывает снижение исследовательской активности (длительности заглядываний в отверстия) у крыс Вистар, содержащихся в группах сородичей [20]. При этом наблюдаемое снижение исследовательской активности было сходно с таковым у животных, подвергавшихся

экспозиции севофлурана (0,3%). В упомянутом исследовании контрольная группа крыс подвергалась экспозиции кислорода в аналогичном режиме. Экспозиция десфлурана (0,6%), однако, не вызывала изменения исследовательской активности [20].

Тест социального (парного) взаимодействия. Поведение крыс из разных экспериментальных групп имело больше отличий при первом взаимодействии с незнакомой овариэктомированной самкой (день 6), нежели при повторном тестировании через 20 дней после наркотизации. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние взаимодействия факторов «Экспозиция» и «Операция» на длительность социального исследования – обнюхивание партнера и аллогрумминг (рис. 2) как в первом ($F(1,24) = 6,92$; $P = 0,015$), так и во втором тестах ($F(1,24) = 6,84$; $P = 0,015$). Длительность элементов, отражающих доминирование и агрессивное поведение (угрозы, пинки, перелезание, борьба, укусы и пр.), были в меньшей степени присущи крысам, подвергавшимся длительной экспозиции галотана, однако различия не достигали уровня значимости ($F(1,24) = 3,13$; $P = 0,09$ – для взаимодействия факторов, тест № 2). Двигательная активность крыс в условиях теста социального взаимодействия также не различалась.

Таким образом, при тестировании социального поведения крыс выявлена пониженная социальная активность у животных, подвергнутых длительной экспозиции галотана и операции, что может

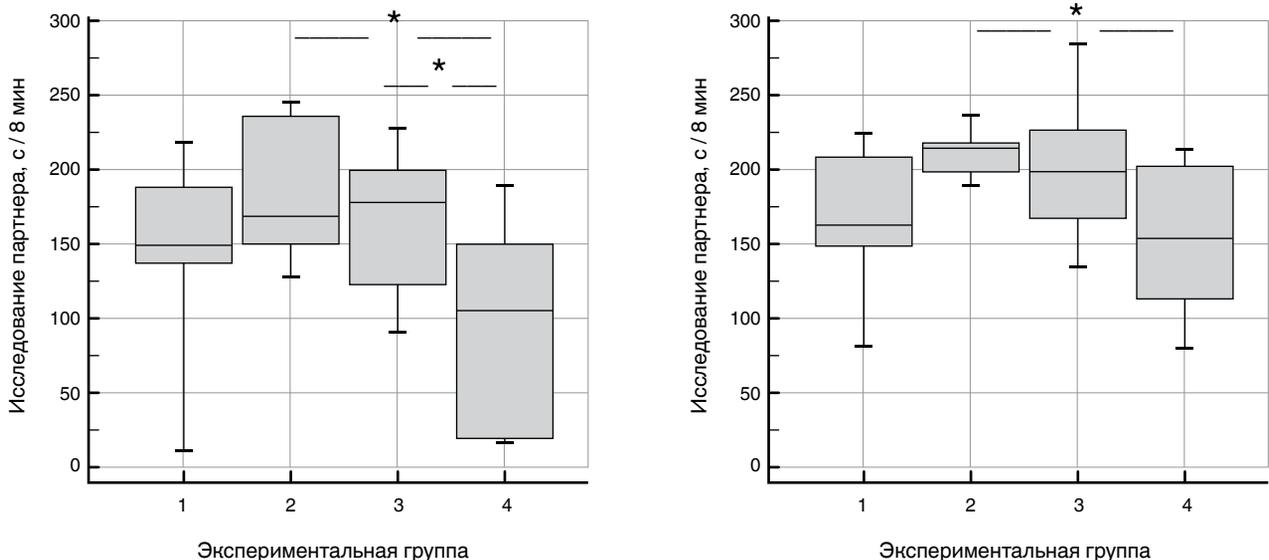


Рис. 2. Социальное поведение самцов крыс в тесте парного взаимодействия: через 6 (левая панель) и 20 (правая панель) дней после экспозиции галотана и/или операции. Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают медиану и 25-й/75-й процентиля, а «усы» – 10-й и 90-й процентиля. Экспериментальные группы: 1 – «Контроль» ($n = 9$); 2 – «Операция» ($n = 8$); 3 – «Экспозиция» ($n = 6$); 4 – «Экспозиция + Операция» ($n = 5$). Длительность теста – 8 мин. * $P < 0,05$ – значимые отличия (тест Бонферрони)

Fig. 2. Social behavior of male rats in pair interaction test: in 6 (left panel) and 20 (right panel) days after exposure to halothane and/or surgery. The data are presented as box-and-whiskers diagram, where boxes show the median and the 25th/75th percentiles, and whiskers - the 10th and 90th percentiles. Experimental groups: 1 – «Control» ($n = 9$); 2 – «Surgery» ($n = 8$); 3 – «Exposure» ($n = 6$); 4 – «Exposure + Surgery» ($n = 5$). * Duration of test is 8 minutes. * $P < 0.05$ – significant differences (Bonferroni test)

свидетельствовать о нарушении социальных когнитивных функций, вследствие чего может возникнуть социальная дезадаптация. Данный тест редко используется при оценке влияния ингаляционных анестетиков на поведение животных. Однако ранее было показано, что детеныши самок мышей, подвергавшихся анестезии с использованием севофлурана, имеют пониженную социальную активность (поведение, подобное наблюдаемому при расстройствах аутистического спектра), в то время как их взаимодействие с незнакомыми объектами не отличается от контрольных животных [27].

Тест распознавания объектов. При первом предъявлении двух одинаковых объектов суммарное время, потраченное на их изучение, не отличалось (фактор «Экспозиция» – $F(1,24) = 2,18$; $P = 0,15$; фактор «Операция» – $F(1,24) = 0,03$; $P = 0,87$, взаимодействие факторов – $F(1,24) = 1,32$; $P = 0,26$), однако с учетом малой мощности выборки по фактору «Экспозиция» (0,17) следует с осторожностью относиться к отрицанию его влияния из-за высокой вероятности допущения ошибки II рода ($\beta = 0,87$). Из дальнейшего статистического анализа были исключены животные, интерес к предметам у которых длился менее 5 с, и те, которые не исследовали один из предъявляемых объектов. Анализ исследовательской активности животных через 1 ч после первичного ознакомления (претест) выявил значимое влияние фактора «Тест/претест» ($F(1,17) = 25,63$; $P < 0,001$), а при дальнейшем межгрупповом сравнении обнаружено отсутствие различий индексов предпочтения в претесте и тесте только у крыс группы «Экспозиция + Операция»,

что свидетельствует о нарушении распознавания нового объекта (рис. 3А). Через 24 ч после претеста распознавание нового объекта было уже нарушено у обеих групп животных ($F(1,17) = 8,15$; $P = 0,011$), подвергавшихся длительной экспозиции галотана (рис. 3Б).

Тест экстраполяционного извлечения. На этапе обучения выявлены животные, не сумевшие поднырнуть под стенку цилиндра в течение 3 мин (в группе «Контроль» – 2 из 9; в группе «Операция» – 1 из 8). Все крысы, подвергавшиеся длительной экспозиции, справились с поставленной задачей, при этом анализ выживаемости Каплана – Майера показал межгрупповые различия (Log-Rank test – 8,746; $df = 3$; $P = 0,033$) и значимо более короткий латентный период подныривания ($P = 0,033$, Holm-Sidak method) в группе «Экспозиция + Операция» (в среднем $10,2 \pm 2,2$ с). В связи с минимальным исходным латентным периодом в этой группе на этапе выработки навыка его изменения не выявлены, тогда как в остальных группах происходило укорочение латентного периода, что приводило к исчезновению межгрупповых отличий (посадка № 2 – Log-Rank test – 2,44; $df = 3$; $P = 0,49$; посадка № 3 – Log-Rank test – 0,09; $df = 3$; $P = 0,99$). В прочих тестах (на день 2 и 7 после выработки навыка извлечения) также не обнаружено значимых различий данного показателя. Несмотря на то что крысы, подвергавшиеся длительной экспозиции галотана, в целом быстрее извлекались от нахождения в узком цилиндре, они больше времени проводили в основной емкости экспериментальной установки и на лестнице, при этом значимое воздействие

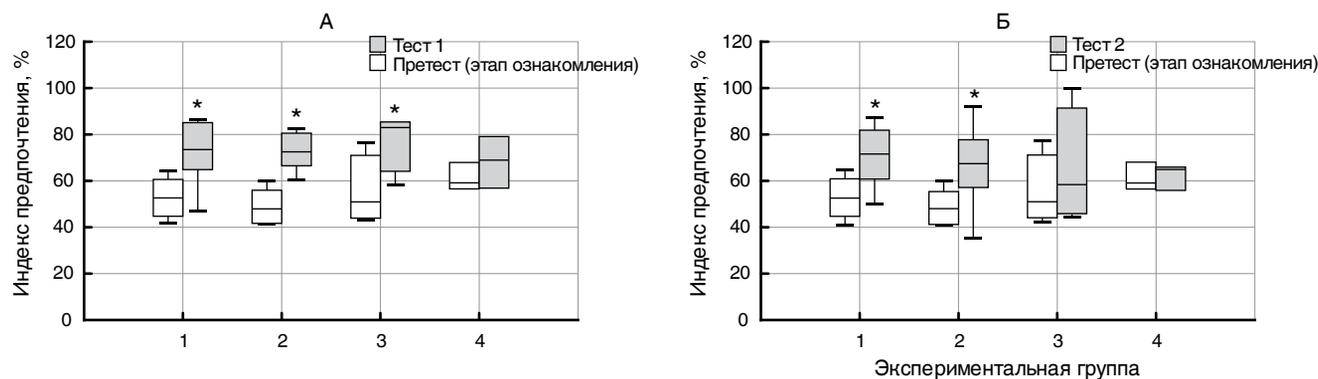


Рис. 3. Распознавание нового объекта: индекс предпочтения, рассчитанный как отношение времени, потраченного на изучение нового объекта, ко времени, потраченному на изучение обоих типов (нового и знакомого) объектов в тестах, проводимых через 1 ч (А) и 24 ч (Б) после ознакомления с определенным типом объектов (в тестах – знакомый объект).

Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают медиану и 25-й/75-й процентиля, а «усы» – 10-й и 90-й процентиля. Экспериментальные группы: 1 – «Контроль»; 2 – «Операция»; 3 – «Экспозиция»; 4 – «Экспозиция + Операция». Длительность претеста и тестов – 10 мин. $n = 3-8$.

* $P < 0,05$ – значимые отличия показателей теста от показателей претеста (тест Бонферрони)

Fig. 3. Novel object recognition: preference index, estimated as ratio of time, spent on the investigation of both types (novel and familiar) of objects in tests conducted in 1 hour (A) and 24 hours (B) after familiarization with the certain type of objects (in tests - familiar object).

The data are presented as box-and-whiskers diagram, where boxes show the median and the 25th/75th percentiles, and whiskers - the 10th and 90th percentiles. Experimental groups: 1 – «Control»; 2 – «Surgery»; 3 – «Exposure»; 4 – «Exposure + Surgery». Duration of pretest and test - 10 minutes. $n = 3-8$. * $P < 0.05$ – significant differences of test results from pretest results (Bonferonni test)

фактора «Экспозиция» отмечено при посадке № 2 ($F(1,21) = 10,76; P = 0,004$) и № 3 ($F(1,22) = 7,14; P = 0,01$) в период выработки реакции.

Успешность выполнения реакции избавления (подныривания под край цилиндра) может быть связана с тактикой поведения крыс, спецификой их эмоциональной и двигательной реакции в условиях острого стресса, активным или пассивным реагированием на ситуацию. Животные контрольной группы после размещения в цилиндре были активны и сразу начинали пытаться вскарабкаться вверх по его стенке или совершали прыжки. Эта активность была непродуктивной, подобна панической, вытесняла ориентировочное поведение, результатом которого могли стать попытки поднырнуть под стенку цилиндра. Крысы, подвергавшиеся длительной экспозиции галотана, сначала затаивались, потом вращались в цилиндре и подныривали под его стенку. Таким образом, можно предположить, что под воздействием галотана у животных снижался уровень эмоционального реагирования на стрессорные условия, что в конечном счете приводило к более быстрому принятию решения. В то же время считают, что прыжковая активность крыс в тесте экстраполяционного избавления усиливается при снижении когнитивных функций животных, в том числе после применения нарушающих внимание фармакологических средств [3]. Если принимать такую точку зрения, то полученные нами результаты свидетельствуют об улучшении когнитивных

способностей крыс, подвергнутых длительному воздействию паров галотана.

Тест форсированного плавания. Поведение крыс оценивали как на этапе выработки «поведенческого отчаяния» («претест», день 14), так и на этапе оценки депрессивноподобного состояния («тест», день 15). При первом попадании в ситуацию неизбежного аверсивного воздействия холодной ($t = 24^{\circ}\text{C}$) воды поведение крыс из разных групп не отличалось, однако двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние фактора «Экспозиция» на длительность иммобилизации ($F(1,24) = 5,70; P = 0,025$, рис. 4) и длительность «гребли» ($F(1,24) = 5,26; P = 0,03$). Зависимость поведения избегания (карабкање на стенку и ныряние) и уровня дефекации от оцениваемых факторов не достигала уровня значимости. Более высокая температура тела крыс, ранее подвергавшихся длительной экспозиции галотана (влияние фактора «Экспозиция» – $F(1,24) = 11,14; P = 0,003$), также свидетельствует об их меньшей активности при нахождении в холодной воде в течение 15 мин. В то же время в экспериментах на крысах показано, что галотан влияет на активность термочувствительных нейронов гипоталамуса [13], которые участвуют в регуляции температуры тела [9].

Подобные различия в поведении сохранялись и во 2-й день теста (рис. 4): только фактор «Экспозиция» оказывал значимое влияние ($F(1,24) = 7,40; P = 0,012$ – дрейфование; $F(1,24) = 5,36; P = 0,029$ –

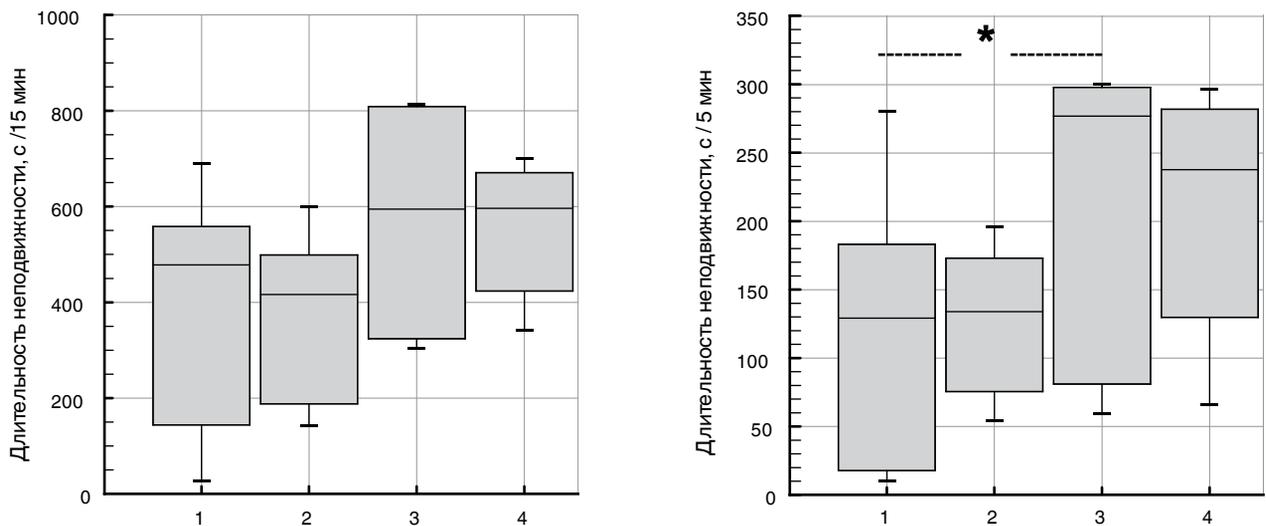


Рис. 4. Длительность неподвижности самцов крыс, подвергнутых форсированному плаванию в течение 15 или 5 мин (1-й и 2-й дни теста – левая и правая панели соответственно).

Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают медиану и 25-й/75-й процентили, а «усы» – 10-й и 90-й процентили. Экспериментальные группы: 1 – «Контроль»; 2 – «Операция»; 3 – «Экспозиция»; 4 – «Экспозиция + Операция». Длительность теста – 15 мин (левая панель) и/или 5 мин (правая панель). * $P < 0,05$ – значимые отличия (тест Бонферрони)

Fig. 4. Duration of immobility of male rats undergoing forced swimming during 15 or 5 minutes (1st and 2nd days of the test - left and right panel respectively).

The data are presented as box-and-whiskers diagram, where boxes show the median and the 25th/75th percentiles, and whiskers - the 10th and 90th percentiles. Experimental groups: 1 – «Control»; 2 – «Surgery»; 3 – «Exposure»; 4 – «Exposure + Surgery». Duration of test - 15 minutes (left panel) and/or 5 minutes (right panel). * $P < 0.05$ – significant differences (Bonferroni test)

«гребля»), при этом отличие группы «Экспозиция» от группы «Контроль» достигало уровня значимости только по длительности неподвижности. Отличий ректальной температуры не выявлено, а влияние факторов на эмоциональность животных (количество оставленных в воде болюсов) было близко к значимым: $F(1,24) = 2,82$; $P = 0,11$ – «Экспозиция»; $F(1,24) = 3,29$; $P = 0,08$ – «Операция»; $F(1,24) = 2,55$; $P = 0,12$ – взаимодействие факторов. Это свидетельствует о снижении уровня эмоционального реагирования крыс, подвергнутых экспозиции и/или операции, на стрессирующие условия теста.

Тест полового поведения. Все самцы, использованные в тесте, не имели ранее опыта взаимодействия с рецептивной самкой. Несмотря на то что половая активность самцов из контрольной группы была в целом меньше, каких-либо значимых различий не отмечено, что, возможно, связано с малой мощностью экспериментальной выборки. Скорость инициации полового поведения была минимальной в группе «Операция», однако анализ выживаемости Каплана – Майера не показал значимых межгрупповых различий ни латентного периода садки (Log-Rank test – 2,50; $df = 3$; $P = 0,48$), ни латентного периода интромиссии (Log-Rank test – 1,65; $df = 3$; $P = 0,65$). Не обнаружено также влияния общей анестезии галотаном на общую потенцию самцов крыс, оцениваемую по количеству консумматорных актов полового поведения – эякуляций, хотя, с учетом малой мощности выборки, влияние факторов «Экспозиция» ($F(1,24) = 2,11$; $P = 0,16$) и «Операция» ($F(1,24) = 1,94$; $P = 0,18$) заслуживает внимания (взаимодействие факторов – $F(1,24) = 0,41$; $P = 0,53$). Ранее нами показано [1], что социальная депривация (индивидуальное содержание животных, подобное использованию в настоящем исследовании) приводит к уменьшению половой активности сексуально наивных самцов крыс. Можно предположить, что на фоне умеренного стресса, оказываемого аверсивными условиями используемой батареи тестов, данное изменение полового поведения может только усугубиться. С учетом изменения (угнетения) эмоционального реагирования животных, подвергнутых воздействию паров галотана и показанного в тестах социального взаимодействия, экстраполяционного избавления и в тесте форсированного плавания, угнетающее действие жизненных событий может быть менее выраженным у крыс после длительной экспозиции галотана, в целом характеризующихся пониженным уровнем эмоционального реагирования. Работ по изучению влияния общей анестезии на половое поведение практически нет. Однако было показано, что экспозиция субанестетических концентраций галотана в течение 15 дней вызывает замедление инициации полового поведения, увеличение длительности постэякуляторных рефрактерных периодов и снижение подвижности сперматозоидов у крыс. Частично эти изменения сохраняются до 30-го дня ежедневных экспозиций,

однако не обнаруживаются при тестировании через 45 и 60 дней непрерывного воздействия [19], что свидетельствует о выработке толерантности к сексологическим побочным эффектам данного ингаляционного анестетика.

Заключение

Как было отмечено ранее, в настоящее время не существует общепризнанных способов экспериментального моделирования послеоперационных нарушений поведения/когнитивных дисфункций вследствие анестезии ингаляционными анестетиками, что придает выполняемым в этой области работам особую значимость. Настоящее исследование выполнено с использованием сбалансированного факторного дизайна (2×2), что позволяло оценить как воздействие длительной экспозиции галотана, так и воздействие хирургического вмешательства, а также взаимодействие этих двух факторов. Косвенным доказательством различий силы воздействия при использовании собственно анестезии и сочетанного воздействия анестезии и хирургического вмешательства может являться полученный исход, где летальность вследствие длительной экспозиции галотана и операции на органах брюшной полости значительно отличалась от летальности после воздействия только галотаном (50 и 0% соответственно). Основные результаты, полученные в данной работе, отражены в табл. 2.

Методической особенностью настоящего исследования было его выполнение на крысах, содержащихся в условиях социальной изоляции, что, на наш взгляд, отчасти отражает картину выпадения из социального контекста жизни в периоперационный период у людей. Между тем у индивидуально содержащихся животных происходит ряд как нейрональных, так и поведенческих изменений: увеличиваются агрессивность [31] и общая реактивность на стимулы окружающей обстановки, нарушаются исследовательская активность [30] и способность к обучению [12], снижается половая активность [1].

Сделано предположение, что изменение поведения крыс после длительной экспозиции галотана связано отчасти с развитием у них эмоционального уплощения, о чем свидетельствуют результаты ряда использованных тестов. Так, негативное действие общей анестезии выявлено в тесте форсированного плавания, позволяющем по изменению длительности иммобилизации судить о низком аффективном статусе животных [22, 23]. Уменьшение уровня дефекации, выявленное в этом тесте, также свидетельствует в пользу этого, поскольку является признанным индексом эмоциональности [15]. Несмотря на то что тест форсированного плавания не дает никаких полезных характеристик для трансляции в клинику, предполагается, например, что вызванное фенциклидином увеличение длительности иммобилизации может служить экспериментальной моделью аффективного уплоще-

Таблица 2. Основные результаты настоящего экспериментального исследования

Table 2. Main results of the present experimental study

Поведенческий тест	День	Выявленный эффект	
		«Экспозиция»	«Экспозиция» + «Операция»
Двигательная активность в «Актометре» (180 мин)	0	↓ горизонтальной и вертикальной двигательной активности	ns
«Открытое поле» (8 мин)	5	ns	ns
Социальное взаимодействие (8 мин)	6	ns	↓ длительности исследования партнера
	20	ns	↓ длительности исследования партнера
Распознавание объектов (10 мин)	7	ns	↓ индекса предпочтения нового объекта
	8	↓ индекса предпочтения нового объекта	↓ индекса предпочтения нового объекта
Экстраполяционное избавление (3 мин)	12	↑ длительности пребывания в основной установке	↓ латентного периода подныривания (1-ая посадка)
	13	ns	ns
	19	ns	ns
Тест форсированного плавания (15 мин – 14 день и 5 мин – 15 день)	14	↑ длительности неподвижности ↓ длительности гребли ↑ ректальной T°	ns
	15	↑ длительности неподвижности ↓ длительности гребли	ns
Половое поведение (100 мин)	21	ns	ns

Примечание: ↓ – статистически значимое уменьшение величины регистрируемого показателя, ↑ – статистически значимое увеличение величины регистрируемого показателя, ns – отсутствуют значимые отличия от контрольной группы (non-significance)

ния – одного из негативных симптомов шизофрении [24]. В тесте социального взаимодействия, в большей степени обладающего трансляционной валидностью, обнаружено снижение активности, направленной на исследование партнера при отсутствии каких-либо проявлений тревожности (замирания, неадекватных защитных стоек и пр.). Ранее у мышей было обнаружено, что пониженная социальная активность свойственна потомству самок, подвергавшихся анестезии с использованием севофлурана [27]. В указанной работе такие изменения поведения были оценены как подобие расстройств аутического спектра, наблюдаемого у детей после хирургических манипуляций. Признаков тревожности не обнаружено и в тесте «Открытое поле», хотя нужно отметить, что условия проведения данного теста (освещенность 150 лк) не провоцировали ее проявления. Данный тест в целом оказался малоинформативным: не выявлено никаких различий ни двигательной, ни исследовательской активности крыс. Тем не менее это согласуется с результатами ранее выполненных исследований с использованием галотана (1 ч экспозиции) и Sprague – Dawley крыс [8]. Относительно уровня тревожности в послеоперационный период в клинических исследованиях показано, что у детей после общей анестезии возможно как повышение, так и понижение ее уровня по сравнению с предоперационным. Так, было выявлено, что развитие послеоперационных когнитивных дисфункций сопровождается (у 15 из 16 мальчиков) снижением среднего уровня тревожности [4]. В тесте экстраполяционного избавления у крыс, подвергшихся

длительной экспозиции, также было меньше проявлений тревожности (практически отсутствовали активные попытки выбраться через верх цилиндра), что позволило им быстрее контрольных животных найти правильный способ избавления от аверсивной ситуации. Полученный навык животные сохраняли на протяжении всех дней теста, что свидетельствует об отсутствии нарушения памяти. Действительно, ранее было показано, что галотан (0,1 MAC) улучшает консолидацию памяти, связанную с негативными событиями (электрические удары по лапам) у крыс [7]. В нейтральной с точки зрения эмоционального воздействия ситуации (тест предпочтения объектов) долговременная память у животных после продолжительной анестезии, оцениваемая по индексу предпочтения в тесте через 24 ч после ознакомительной сессии, была хуже. Более того, в группе «Экспозиция + Операция» не удавалось выявить увеличения индекса предпочтения нового объекта уже через 1 ч после ознакомления с предметами. Результаты двух последних тестов подтверждают мнение о том, что общие анестетики способны оказывать различное действие на разные типы обучения, облегчая его при некоторых обстоятельствах [25]. Существует целый ряд экспериментальных исследований, в которых показано улучшение памяти у мышей и крыс после общей анестезии. Так, уменьшается количество ошибок в радиальном лабиринте у ранее обученных молодых (но не 18-месячных) крыс [10] и мышей [16], а также у мышей, получающих анестетики непосредственно после экспериментальных сессий [17].

В целом использованная в настоящей работе батарея тестов оказалась информативной, в связи с чем в перспективе представляется интересным сравнительное исследование действия разных ингаляционных анестетиков. Можно ожидать, что их эффекты будут более выраженными в тестах, оценивающих обучение и память, поскольку ранее с использованием других методов показано, что амнестический потенциал ингаляционных анестетиков, основанный на относительной минимальной альвеолярной концентрации и ED50, распределяется следующим образом в порядке убывания оказываемого действия: NO ≥ десфлуран ≥ севофлуран ≥ изофлуран > галотан [6].

Благодарность: авторы выражают глубокую признательность сотрудникам отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана М. Г. Семиной, Л. В. Мус и М. В. Дорофейковой за выполнение отдельных поведенческих тестов.

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

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Белозерцева И. В. Экспериментальная фармакология полового поведения // Фармакология поведения: Хрестоматия, под ред. А. Ю. Беспалова, Э. Э. Звартау, П. Бирдсли, Дж. Катца. – СПб.: Издательство СПбГМУ, 2013. – С. 105–137.
2. Белозерцева И. В., Драволина О. А., Тур М. В. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова / под ред. Э. Э. Звартау. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2014. – 79 с.
3. Бондаренко Н. А. Индивидуальные различия поведения крыс в тесте «Экстраполяционное извлечение»: возможность выявления «тревожного» фенотипа // Тез. Всероссийской конференции «Инновации в фармакологии: от теории к практике» – СПб., 2014. – С. 28–30.
4. Кузин А. П., Федерякин Д. В., Карташев В. Н. Послеоперационные когнитивные дисфункции у детей // Верхневолжский мед. журнал. – 2014. – Вып. 12, № 3. – С. 11–14.
5. Abel E. L., Bilitzke P. J. A possible alarm substance in the forced swimming test // *Physiol. Behav.* – 1990. – Vol. 48. – P. 233–239.
6. Alkire M. T., Gorski L. A. Relative amnesic potency of five inhalational anesthetics follows the meyer-overton rule // *Anesthesiology.* – 2004. – Vol. 101. – P. 417–429.
7. Alkire M. T., Nathan S. V., McReynolds J. R. Memory enhancing effect of low-dose sevoflurane does not occur in basolateral amygdala-lesioned RATS // *Anesthesiology.* – 2005. – Vol. 103. – P. 1167–1173.
8. Bellido I., Bellido M. V., Gomez-Luqu F. Amnesia induced by sevoflurane and halothane anaesthesia coexists with a 5-HT1A receptor dysfunction in the rat brain // *Proceedings of the British Pharmacological Society, BPS Winter Meeting 2012.*
9. Boulant J. A. Hypothalamic neurons regulating body temperature // In: Fregly M. J., Blatteis C. M. eds. *APS handbook of physiology, Section 4: environmental physiology* -New York: Oxford Press, 1996. – P. 105–126.
10. Culley D. J., Yukhananov R. Y., Baxter M. G., Crosby G. The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats // *Anesth. Analg.* – 2003. – Vol. 96. – P. 1004–1009.
11. Deng M., Loepke A. W. Anesthetic Neurotoxicity – Preclinical and Clinical Research // *J. Perioper. Sci.* – 2014. – Vol. 1, № 6. – P. 1–49.
12. Essman W. B. Some neurochemical correlates of altered memory consolidation // *Trans. NY Acad. Sci.* – 1970. – Vol. 32, № 8. – P. 948–973.
13. Farber N., Schmidt J., Kampine J., Schmeling W. Halothane Modulates Thermosensitive Hypothalamic Neurons in Rat Brain Slices // *Anesthesiology.* – 1995. – Vol. 83, № 6. – P. 1241–1253.
14. Gauthier A., Bradbury C. Chapter 5. Anesthetic drugs and the developing fetal brain // In: *Controversies in Obstetric Anesthesia and Analgesia* (Ed.: I. McConachie) – 2011. – P. 72–85.
15. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // *J. Comp. Psychol.* – 1934. – Vol. 18. – P. 385–403.
16. Komatsu H., Nogaya J., Anabuki D. et al. Memory facilitation by posttraining exposure to halothane, enflurane, and isoflurane in ddN mice // *Anesth. Analg.* – 1993. – Vol. 76. – P. 609–612.

1. Belozertseva I.V. Eksperimentalnaya farmakologiya polovogo povedeniya. *Farmakologiya povedeniya: Khrestomatiya*. [Experimental pharmacology of sexual behavior. Behavioral pharmacology. Anthology]. Ed. by A.Yu. Bespalov, E.E. Zvartau, P. Birdsley, J. Kats. St. Petersburg, Izdatelstvo SPbGMU Publ., 2013, pp. 105-137.
2. Belozertseva I.V., Dravolina O.A., Tur M.V. Rukovodstvo po ispolovaniyu laboratornykh zhivotnykh dlya nauchnykh i uchebnykh tseyev 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. Zvartau, St. Petersburg, Izdatelstvo SPbGMU Publ., 2014, 79 p.
3. Bondarenko N.A. Individual differences in rats' behavior during extrapolational deliverance test: opportunities to detect anxious phenotype. *Téz. Vserossiyskoy konferentsii «Innovatsii v farmakologii: ot teorii k praktike»*. [Abst. Book of All-Russian Conference on Innovation in Pharmacology: from theory to practice]. St. Petersburg, 2014, pp. 28-30. (In Russ.)
4. Kuzin A.P., Federyakin D.V., Kartashev V.N. Post-surgery cognitive disorders in children. *Verkhnevolszhsky Med. Journal*, 2014, Issue 12, no. 3, pp. 11-14. (In Russ.)
5. Abel E.L., Bilitzke P.J. A possible alarm substance in the forced swimming test. *Physiol. Behav.*, 1990, vol. 48, pp. 233-239.
6. Alkire M.T., Gorski L.A. Relative amnesic potency of five inhalational anesthetics follows the meyer-overton rule. *Anesthesiology*, 2004, vol. 101, pp. 417-429.
7. Alkire M.T., Nathan S.V., McReynolds J.R. Memory enhancing effect of low-dose sevoflurane does not occur in basolateral amygdala-lesioned RATS. *Anesthesiology*, 2005, vol. 103, pp. 1167-1173.
8. Bellido I., Bellido M.V., Gomez-Luqu F. Amnesia induced by sevoflurane and halothane anaesthesia coexists with a 5-HT1A receptor dysfunction in the rat brain. *Proceedings of the British Pharmacological Society, BPS Winter Meeting 2012.*
9. Boulant J.A. Hypothalamic neurons regulating body temperature. In: Fregly M.J., Blatteis C.M. eds. *APS handbook of physiology, Section 4: environmental physiology*, New York, Oxford Press, 1996. – P. 105–126.
10. Culley D.J., Yukhananov R.Y., Baxter M.G., Crosby G. The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats. *Anesth. Analg.*, 2003, vol. 96, pp. 1004–1009.
11. Deng M., Loepke A. W. Anesthetic Neurotoxicity – Preclinical and Clinical Research. *J. Perioper. Sci.*, 2014, vol. 1, no. 6, pp. 1-49.
12. Essman W.B. Some neurochemical correlates of altered memory consolidation. *Trans. NY Acad. Sci.*, 1970, vol. 32, no. 8, pp. 948-973.
13. Farber N., Schmidt J., Kampine J., Schmeling W. Halothane Modulates Thermosensitive Hypothalamic Neurons in Rat Brain Slices. *Anesthesiology*, 1995, vol. 83, no. 6, pp. 1241-1253.
14. Gauthier A., Bradbury C. Chapter 5. Anesthetic drugs and the developing fetal brain. In: *Controversies in Obstetric Anesthesia and Analgesia* (Ed.: I. McConachie), 2011, pp. 72-85.
15. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol.*, 1934, vol. 18, pp. 385-403.
16. Komatsu H., Nogaya J., Anabuki D. et al. Memory facilitation by posttraining exposure to halothane, enflurane, and isoflurane in ddN mice. *Anesth. Analg.*, 1993, vol. 76, pp. 609-612.

17. Komatsu H., Nogaya J., Kuratani N. et al. Repetitive post-training exposure to enflurane modifies spatial memory in mice // *Anesthesiology*. – 1998. – Vol. 89. – P. 1184–1190.
18. Motulsky H. J. Common misconceptions about data analysis and statistics // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 387. – P. 1017–1023.
19. Oropeza-Hernandez L. F., Quintanilla-Vega B., Albores A. et al. Inhibitory action of halothane on rat masculine sexual behavior and sperm motility // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2002. – Vol. 72. – P. 937–942.
20. Ozer M., Baris S., Karakaya D. et al. Behavioural effects of chronic exposure to subanesthetic concentrations of halothane, sevoflurane and desflurane in rats [Effets comportementaux d'une exposition chronique à des concentrations sous-anesthésiques d'halothane, de sévoflurane et de desflurane chez les rats] // *Can. J. Anesth.* – 2006. – Vol. 53, № 7. – P. 653–658.
21. Papaleo F., Crawley J. N., Song J. et al. Genetic dissection of the role of catechol-O-methyltransferase in cognition and stress reactivity in mice // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28. – P. 8709–8723.
22. Porsolt R. D., Anton G., Blave N. et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments // *Eur. J. Pharmacol.* – 1978. – Vol. 47. – P. 379–391.
23. Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // *Nature*. – 1977. – Vol. 266. – P. 730–732.
24. Porsolt R. D., Moser P. C., Castagne V. Behavioral indices in antipsychotic drug discovery // *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*. – 2010. – Vol. 333, № 3. – P. 632–636.
25. Pryor K. O., Veselis R. A., Reinsel R. A. et al. Enhanced visual memory effect for negative versus positive emotional content is potentiated at sub-anaesthetic concentrations of thiopental // *Br. J. Anaesth.* – 2004. – Vol. 93. – P. 348–355.
26. Rowland D. L., Thornton J. A. Testing and analytical procedures for laboratory studies involving nonresponders during a limited observation period: An illustration using male sexual behavior in rats // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2001. – Vol. 68. – P. 403–409.
27. Satomoto M., Satoh Y., Terui K. et al. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice // *Anesthesiology*. – 2009. – Vol. 110. – P. 628–637.
28. Szmuk P., Olomuk P., Pop R. B. et al. General anesthetics and neurotoxicity in the developing brain: a review of current literature // *J. Román de Anestezie Terapie Intensivă*. – 2010. – Vol. 17, № 2. – P. 117–122.
29. Uemura E., Levin E. D., Bowman R. E. Effects of Halothane on Synaptogenesis and Learning Behavior in Rats // *Exp. Neurol.* – 1985. – Vol. 89. – P. 520–529.
30. Valzelli L. The exploratory behaviour in normal and aggressive mice // *Psychopharmacologia*. – 1969. – Vol. 15. – P. 232–235.
31. Valzelli L. The «Isolation Syndrome» in mice // *Psychopharmacologia*. – 1973. – Vol. 31. – P. 305–320.
17. Komatsu H., Nogaya J., Kuratani N. et al. Repetitive post-training exposure to enflurane modifies spatial memory in mice. *Anesthesiology*, 1998, vol. 89, pp. 1184-1190.
18. Motulsky H.J. Common misconceptions about data analysis and statistics. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 2014, vol. 387, pp. 1017-1023.
19. Oropeza-Hernandez L.F., Quintanilla-Vega B., Albores A. et al. Inhibitory action of halothane on rat masculine sexual behavior and sperm motility. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2002, vol. 72, pp. 942,
20. Ozer M., Baris S., Karakaya D. et al. Behavioural effects of chronic exposure to subanesthetic concentrations of halothane, sevoflurane and desflurane in rats [Effets comportementaux d'une exposition chronique à des concentrations sous-anesthésiques d'halothane, de sévoflurane et de desflurane chez les rats]. *Can. J. Anesth.*, 2006, vol. 53, no. 7, pp. 653-658.
21. Papaleo F., Crawley J.N., Song J. et al. Genetic dissection of the role of catechol-O-methyltransferase in cognition and stress reactivity in mice. *J. Neurosci.*, 2008, vol. 28, pp. 8709-8723.
22. Porsolt R.D., Anton G., Blave N. et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.*, 1978, vol. 47, pp. 379-391.
23. Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 1977, vol. 266, pp. 730-732.
24. Porsolt R.D., Moser P.C., Castagne V. Behavioral indices in antipsychotic drug discovery. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*, 2010, vol. 333, no. 3, pp. 632-636.
25. Pryor K.O., Veselis R.A., Reinsel R.A. et al. Enhanced visual memory effect for negative versus positive emotional content is potentiated at sub-anaesthetic concentrations of thiopental. *Br. J. Anaesth.*, 2004, vol. 93, pp. 348-355.
26. Rowland D.L., Thornton J.A. Testing and analytical procedures for laboratory studies involving nonresponders during a limited observation period: An illustration using male sexual behavior in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2001, vol. 68, pp. 403-409.
27. Satomoto M., Satoh Y., Terui K. et al. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology*, 2009, vol. 110, pp. 628-637.
28. Szmuk P., Olomuk P., Pop R.B. et al. General anesthetics and neurotoxicity in the developing brain: a review of current literature. *J. Román de Anestezie Terapie Intensivă*, 2010, vol. 17, no. 2, pp. 117-122.
29. Uemura E., Levin E.D., Bowman R.E. Effects of Halothane on Synaptogenesis and Learning Behavior in Rats. *Exp. Neurol.*, 1985, vol. 89, pp. 520-529.
30. Valzelli L. The exploratory behaviour in normal and aggressive mice. *Psychopharmacologia*, 1969, vol. 15, pp. 232-235.
31. Valzelli L. The «Isolation Syndrome» in mice. *Psychopharmacologia*, 1973, vol. 31, pp. 305-320.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

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

Белозерцева Ирина Владимировна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальных доклинических исследований с виварием Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
Тел.: 8 (812) 338–67–14.
E-mail: belozertseva@gmail.com

Драволина Ольга Андреевна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальной фармакологии аддиктивных состояний Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
Тел.: 8 (812) 338–67–14.
E-mail: olga.dravolina@gmail.com

Кривов Владислав Олегович

анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации № 2 научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: duffywinehouse@yandex.ru

Тур Маргарита Алексеевна

младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных доклинических исследований с виварием Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
Тел.: 8 (812) 338–67–14.
E-mail: vol4onok_07@mail.ru

Полушин Юрий Сергеевич

член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, руководитель научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
Тел.: 8 (812) 338–71–66.
E-mail: polushinyus@1spbgmu.ru

FOR CORRESPONDENCE:

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russian Ministry of Health,
6/-8, Lva Tolstogo St.,
St. Petersburg, 197022.

Irina V. Belozertseva

Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory for Experimental Preclinical Trials with Vivarium of Valdman Pharmacology Institute.
Phone: +7 (812) 338-67-14.
E-mail: belozertseva@gmail.com

Olga A. Dravolina

Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory for Experimental Pharmacology of Addictions by Valdman Pharmacology Institute.
Phone: +7 (812) 338-67-14.
E-mail: olga.dravolina@gmail.com

Vladislav O. Krivov

Anesthesiologist and Intensive Care Practitioner of Anesthesiology and Intensive Care Department no. 2 of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
E-mail: duffywinehouse@yandex.ru

Margarita A. Tur

Junior Researcher of Laboratory for Experimental Preclinical Trials with Vivarium of Valdman Pharmacology Institute.
Phone: +7 (812) 338-67-14.
E-mail: vol4onok_07@mail.ru

Yury S. Polushin

Correspondent Member of RAS, Professor, Doctor of Medical Sciences, Honored Doctor of the Russian Federation, Head of Anesthesiology and Intensive Care Department, Head of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
Phone: +7 (812) 338-71-66.
E-mail: polushinyus@1spbgmu.ru