

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ АНЕСТЕЗИЮ СЕВОФЛУРАНОМ

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

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

Цель: оценить поведение и когнитивные функции крыс после агрессивных воздействий, имитирующих анестезию севофлураном и операцию в клинической практике.

Методика. У самцов крыс стока Вистар ($n = 20$) оценивали долгосрочные поведенческие эффекты длительного (6 ч) воздействия севофлурана и операции на органах брюшной полости. Для индукции анестезии применяли 8 об. % севофлурана в потоке воздуха (2 л/мин), для поддержания анестезии – 4 об. % и 1 л/мин. Во время операции крысу размещали на подогреваемом операционном столике и поддерживали анестезию с помощью маски: проводили 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 соответствии с разработанным ранее протоколом моделирования послеоперационных когнитивных расстройств у крыс выполняли ряд поведенческих тестов, оценивая степень постнаркотической депрессии, двигательную и исследовательскую активность, социальное поведение, способность распознавать новые объекты, особенности поведения и обучаемость в условиях острого стресса и воспроизведение реакции избегания, форсированное плавание и половое поведение. В качестве стандартных оппонентов в тесте «Социальное взаимодействие» использовали овариэктомированных ($n = 8$), а в тесте полового поведения – гормонально стимулированных ($n = 15$) самок крыс.

Результаты. Выявлено, что поведение крыс, испытавших длительное воздействие паров севофлурана и операцию на органах брюшной полости, отличается от поведения контрольных животных в ряде тестов: не способны распознавать новые объекты и медленнее воспроизводят реакцию экстраполяционного избавления через 24 ч и 7 сут после ее выработки. Экспозиция севофлурана значимо не влияла на двигательную и исследовательскую активность в условиях новизны обстановки, длительность иммобилизации в тесте форсированного плавания, социальное и половое поведение самцов крыс.

Выводы. Длительное воздействие севофлурана и операция на органах брюшной полости вызывает когнитивный дефицит у самцов крыс, однако профиль изменений отличен от наблюдаемого после воздействия галотана.

Ключевые слова: севофлуран, операция на органах брюшной полости, нарушения поведения, самцы крыс стока Вистар

Для цитирования: Белозерцева И. В., Драволина О. А., Кривов В. О., Тур М. А., Мус Л. В., Полушин Ю. С. Послеоперационные изменения поведения крыс, получавших анестезию севофлураном // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 55-63. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-2-55-63

POSTOPERATIVE CHANGES IN THE BEHAVIOR OF RATS AFTER ANESTHESIA WITH SEVOFLURANE

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

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

Goal: to assess behavior and cognitive functions of rats after certain aggressive impact imitating anesthesia with sevoflurane and surgery in the clinical practice.

Methods. Male rats of Wistar stock ($n = 20$) were used to assess the long term behavioral effect of continuous (6 hours) of action of sevoflurane and abdomen surgery. For anesthesia induction 8 volumes of % sevoflurane in the air flow (2 l/min) were used, for anesthetic support it was 4 volumes of % and 1 l/min. During surgery the rat was placed on the heated operating table and the mask was used for anesthesia; laparotomy was performed; nestis was isolated and irritated for 10 seconds by massage done by the forefinger and thumb. After that the loop was placed into the abdomen and the wound was sutured layer by layer. Then in accordance with previously compiled protocol on simulation of postoperative cognitive disorders in the rats the following behavioral tests were performed in order to evaluate the degree of post-anesthetic depression – motion and exploratory activity, social behavior, novel object recognition, specific behavior and learning under acute stress and avoidance response, forced swimming, and sexual behavior. Spray rats ($n = 8$) were used as standard opponents for social behavior tests, and hormone-stimulated female rats ($n = 15$) were used for sexual behavior tests.

Results. The results showed that long-term action of sevoflurane vapor and abdomen surgery caused behavioral changes in rats compared to animals from the control group in the number of tests: they are not able to recognize novel objects and slower repeat extrapolational deliverance response in 24 hours and 7 days after its conditioning. Sevoflurane made no significant impact on motion and exploratory activities in novel circumstances, duration of immobilization during forced swimming test, social and sexual behavior of male rats.

Conclusions. Continuous action of sevoflurane and abdomen surgery causes cognitive deficiency in male rats, however the profile of changes is different from the one observed under the action of halothane.

Key words: sevoflurane, abdomen surgery, behavioral disorders, Wistar male rats

For citations: 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. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2017, Vol. 14, no. 2, P. 55-63. (In Russ.) DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-2-55-63

Экспериментальное моделирование нейрокогнитивных дисфункций, вызванных анестезией, играет важную роль в углублении понимания феноменологии данного явления, а также механизма действия

анестетиков и, таким образом, может способствовать разработке рациональных стратегий профилактики возникновения дисфункций и снижения когнитивных способностей [14]. Между тем I. V. Novens et al.

[8] считают, что различия клинических и экспериментальных исследований в подходах к изучению и определению послеоперационных когнитивных дисфункций (ПОКД) могут стать препятствием трансляции их результатов. К очевидным недостаткам экспериментальных исследований, лишаящих их этиологической валидности, могут быть отнесены использование избыточных концентраций анестетиков, многодневные (до 60 дней) многочасовые сессии экспозиции анестетиков, а также отсутствие модельного хирургического вмешательства. Все вышеперечисленное делает невозможным выявить влияние ключевого фактора ПОКД – взаимодействия нейронального возбуждения вследствие хирургического вмешательства и ингибирующего действия анестезии [5]. Кроме того, в подавляющем большинстве экспериментальных работ эффекты анестезии оценивают вскоре после воздействия (через 1–7 дней), а внимание уделяется в основном пространственной памяти, изучаемой в лабиринте Морриса. Изучение других последствий анестезии и операции, как, например, изменение аффективного поведения и исследовательской активности, остается весьма ограниченным [7]. В связи с этим расширение спектра поведенческих тестов, оценивающих отсроченные эффекты анестезии и операции, имеет особую значимость.

Ранее нами разработана и опробована батарея тестов для оценки поведения крыс вследствие 6-часовой экспозиции галотана и хирургического вмешательства на органах брюшной полости [2]. Данное исследование представляет собой следующий этап работы по теме и выполнено по аналогичному плану. Его цель – оценка отдаленных эффектов длительной экспозиции севофлурана и хирургической операции на органах брюшной полости на поведение крыс.

Материалы и методы

Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова [3]. При большинстве тестов поведение животных регистрировали по видеозаписям с помощью программ «Ethograph» (версия 2.07, РИТЕК, Санкт-Петербург, Россия) или «Ethovision XT» (версия 11.5, Noldus, Нидерланды).

Животные. Использовали самцов ($n = 20$) крыс стока Вистар (питомник лабораторных животных «Рапполово», Санкт-Петербург, Россия), которых в течение адаптационного периода (7 дней) содержали в группах по 5 особей в клетках TIV (Tecniplast, Италия), а затем индивидуально – в ТПН клетках (Tecniplast, Италия) на беспылевом наполнителе «Золотой кот» (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, «Лабораторкорм», Москва, Россия) и фильтрованной (AQUAPHOR®, Санкт-Петербург, Россия) водопроводной воде, за исключением времени проведения тестов и пищевой депривации в предоперационный период (12 ч). Основания клеток, подстилочный материал и бутылочки с водой меняли 2 раза в неделю. Самок крыс линии Вистар ($n = 23$), 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. Самцов крыс в случайном порядке распределяли в одну из двух групп: К – контрольную (крыс помещали в индивидуальные боксы для индукции анестезии на 5 мин) или С_О – экспериментальную (экспозиция севофлурана и операция). Выполнено 2 блока экспериментов, сбалансированных по количеству животных из К и С_О групп ($N = 4$ для каждой). При этом график выполнения экспериментальных процедур (рис. 1) соответствовал разработанному ранее [2].

Анестезия и хирургическое вмешательство. Для индукции анестезии крыс С_О группы помещали в индивидуальные боксы ($21 \times 13 \times 9$ см) с перфорированными стенками и сетчатой крышкой, которые размещали в пластиковом контейнере ($50 \times 32 \times 14$ см), подключенном к аппарату для ингаляционной анестезии с испарителем «Sevorange» (Abbott Laboratories Ltd., Великобритания), и подавали 8 об. % севофлурана (Севоран®; Abbott Laboratories Ltd., Великобритания, серия: 6042404) в потоке воздуха (2 л/мин). Для поддержания анестезии использовали 2 об. % севофлурана и поток воздуха 1 л/мин. Концентрацию анестетика в подаваемой газонаркоотической смеси оценивали с помощью газоанализатора «Vamos» (Dräger, Германия). Для выполнения операции (через 90–140 мин после индукции анестезии) крысу размещали на подогреваемом операционном столике и с помощью маски поддерживали анестезию. После бритья операционного поля кожу обрабатывали антисептическим раствором, проводили линейный разрез (≈ 1 см) в области гипогастрия, рассекали мышцы, фасции, брюшину и выделяли тощую кишку, которую в течение 10 с раздражали массирующими движениями указательного и большого пальцев. Затем петлю опускали в брюшную полость, рану послойно ушивали и обрабатывали антибактериальной присыпкой «Эдис» (ООО «Агросервис», Воронеж, Россия). Далее крысу возвращали в бокс для поддержания анестезии до окончания 6-часовой экспозиции севофлурана.

Тест двигательной активности. Через 15 мин после 5-минутного размещения в боксах для нарко-

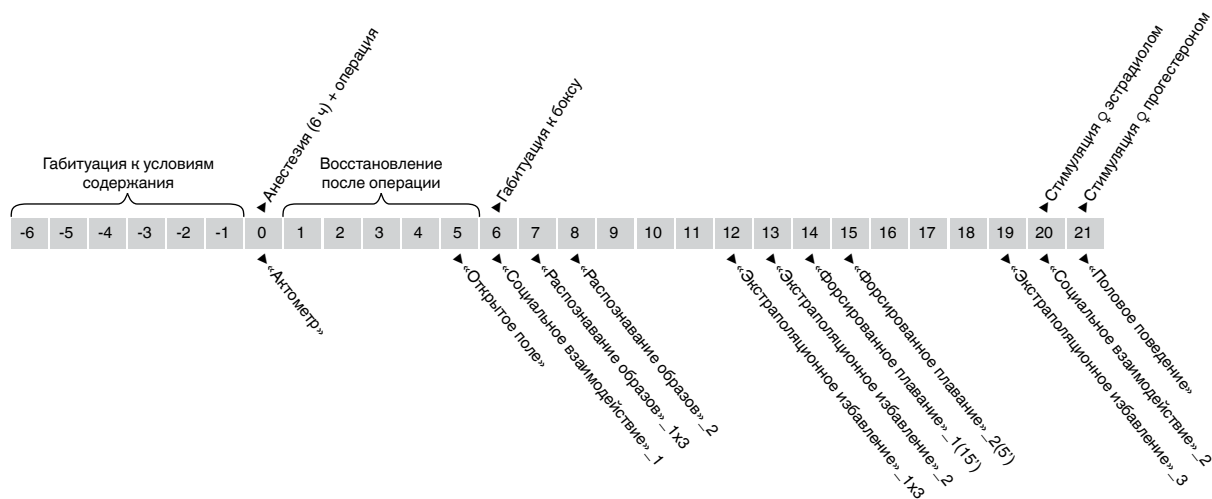


Рис. 1. Схема эксперимента по оценке влияния экспозиции севофлурана (6 ч) и операции на органах брюшной полости на поведение самцов крыс.

Центральная ось отражает дни выполняемого экспериментального исследования. В верхней части – вспомогательные экспериментальные процедуры, в нижней – тесты для оценки поведения и когнитивных способностей

Fig. 1. Diagram of the experiment on assessment of the impact of the exposure to sevoflurane (6 hours) and abdomen surgery on behavior of male rats. The central axis reflects the days of the experiment. The upper part includes auxiliary experimental procedures, the lower part includes tests for evaluation of behavior and cognitive functions.

тизации (К группа) или окончания экспозиции севофлурана (С_О группа) крыс помещали в снабженные 16 фотодатчиками камеры (25 × 35,5 × 34 см) установки «Актометр» для оценки постнаркозной депрессии. Регистрацию горизонтальной и вертикальной двигательной активности выполняли с помощью программного обеспечения MED-PC (MED Associates, Inc., East Fairfield, VT, США) в течение 3 ч.

Тест «Открытое поле» (10 мин) использовали для оценки двигательной и исследовательской активности животных в обстановке новизны, а также уровня их эмоционально-поведенческой реактивности. Крыс высаживали в угол квадратной (120 × 120 см) черной арены, ограниченной стенками (h = 35 см) и имеющей 9 отверстий (d = 35 мм), расположенных в углах условных квадратов (30 × 30 см) в центральной части. Освещенность арены составляла 150 лк. После каждого теста подсчитывали количество оставленных животным фекальных болюсов (индекс эмоциональности) и протирали установку 3%-ным водным раствором H₂O₂ для устранения запахов. Видеозаписи обрабатывали с помощью программы «Ethovision XT», регистрирующей траекторию движения по местонахождению животного каждые 0,2 с. Параллельно с программной обработкой регистрировали выборочные поведенческие элементы: подъемы на задние лапы (вертикальная двигательная активность), груминг, заглядывания в отверстия (исследовательская активность).

Тест «Социальное взаимодействие». Использовали парадигму «резидент-интродер», используя в качестве интродера незнакомую овариэктомизированную самку. Поведение регистрировали («Ethograph») по видеозаписям в течение 8 мин,

фиксируя последовательность и длительность 40 элементов: 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.) поведения.

Тест «Распознавание нового объекта», основанный на естественной потребности животных исследовать новые объекты и не требующий наличия внешней мотивации, награды или наказания, использовали для оценки когнитивных функций (способности выявлять и сопоставлять с информацией, хранящейся в долговременной памяти) и выполняли в 4 этапа: (1) привыкание к экспериментальным условиям накануне ознакомления – 60 мин; (2) ознакомление с 2 одинаковыми объектами – 10 мин; (3) предъявление нового объекта № 1 через 1 ч после ознакомления – 10 мин; (4) предъявление нового объекта № 2 через 24 ч после ознакомления – 10 мин. Экспериментальная камера представляла собой бокс из поликарбоната (60 × 60 × 60 см), дно и стенки которого были покрыты черной светопоглощающей пленкой. Объекты размещали в 10 см от двух соседних углов камеры. Поведение животных записывали на видеокамеру и далее с помощью программы «Ethograph» регистрировали последовательность появления и длительность следующих элементов поведения: обнюхивание каждого объекта, тактильный контакт с ними, сидение вблизи объекта (на расстоянии < 1 см), груминг, подъемы на задние лапы, сидение в углах бокса, локомоция. Для оценки распознавания объекта рассчитывали индекс предпочтения [10] – отношение времени, потраченного на изучение нового объекта, ко времени, потраченному на изучение обоих объектов.

Тест «Экстраполяционное избавление» выполняли для оценки когнитивных функций (поисковой активности/различных видов памяти) в условиях острого стресса. Адаптивное поведение оценивали в 3 экспериментальных сессиях: (1) решение задачи теста и приобретение навыка «избавления» (1-й день – 3 посадки с интервалом 15 мин); (2) проверка воспроизведения навыка через 24 ч (2-й день, одна посадка); (3) проверка воспроизведения навыка через 7 дней после обучения (7-й день, одна посадка) и прохождения двухдневной процедуры теста форсированного плавания. Для выполнения теста использовали собственную модификацию экспериментальной установки, которая была описана ранее [2]. Крысу аккуратно ногами вниз помещали в центральный цилиндр ($d = 10$ см), на 2,5 см погруженный в воду, заполняющую основной резервуар ($d = 35$ см) на глубину 20 см. Поведение животных записывали на видеокамеру (не более 3 мин) до момента появления животного на крышке установки, к которой из воды вела вертикальная металлическая лестница. Замену воды ($t = 24^\circ\text{C}$) проводили после каждой крысы, подсчитывали количество оставленных животным фекальных болюсов. Поведение регистрировали по видеозаписям («Ethograph»), при статистической обработке анализировали латентные периоды (ЛП) подныривания, выхода на лестницу и на крышку, а также длительность пребывания в центральном цилиндре, в основном водном пространстве и на лестнице установки.

Тест «Форсированное плавание» выполняли в оргстеклянных цилиндрах ($d = 20$ см; $h = 45$ см), которые заполняли водой ($t = 24 \pm 1^\circ\text{C}$) до глубины 30 см. Использовали двухдневный протокол теста [11]. Поведение крыс анализировали как в первый день (этап выработки состояния «поведенческого отчаяния» – 15 мин), так и на следующий день (этап оценки депрессивноподобного состояния – 5 мин). Мытье цилиндра и смену воды выполняли после каждого животного, чтобы устранить «ольфакторные сигналы тревоги» [4]. После вынимания из воды крыс оборачивали полотенцем и измеряли у них ректальную температуру («Thermalert TH-5», Physitemp Instruments, Inc. Clifton, NJ, США), а затем помещали в клетку с чистым подстилом и бумажными полотенцами. Поведение регистрировали по видеозаписям с помощью программы «Ethograph», 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 стенку (интенсивные движения всех конечностей с выбросом передних лап над поверхностью воды); ныряние (перемеще-

ния по направлению ко дну цилиндра – поведение избегания); (3) комфортное поведение – отряхивание (для удаления воды из ушей и с глаз) и вытирание (удаление с морды воды передними лапами).

Тест «Половое поведение» самцов крыс оценивали в течение 100 мин. В качестве сексуального партнера использовали самку крыс стока Вистар, которой за 50 ч до теста подкожно вводили эстрадиола дипропионат (ICN Biomedicals Inc., США; 50 мкг/животное), растворенный в кунжутном масле (Acros Organics, NJ, США), а за 5 ч до теста – прогестерон (ОАО «Дальхимфарм», Хабаровск, Россия; 50 мг/животное). Перед тестом (30 мин) самцов размещали в экспериментальных боксах ($25,0 \times 35,5 \times 34,0$ см) для габитуации к экспериментальной камере и условиям приглушенного освещения. Затем подсаживали самку и регистрировали время появления и количество попыток садки, садок с интромиссией и садок с эякуляцией, которые определяли по характерным стереотипным позам [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 (тесты Бонферрони и Даннетта). Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения ЛП наступления оцениваемой реакции (например, в тестах «Экстраполяционное избавление» и «Половое поведение») использовали анализ выживаемости Каплана – Майера, позволяющий принимать во внимание цензурированные данные [12].

Результаты и обсуждение

Во время 6-часовой экспозиции севофлурана и выполнения операции на органах брюшной полости ни одно животное не погибло, однако один самец из С_О группы в ночной период после операции разгрыз швы, в результате чего произошло выпадение органов брюшной полости. Поведение данной крысы было оценено только в тесте двигательной активности, поскольку он был выведен из эксперимента путем передозировки CO_2 .

Двигательная активность («Актометр»). Двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями, выполненный на рангах, выявил значимое влияние фактора «Группа» ($F(1,14) = 5,61; p < 0,05$) и фактора «Интервал» ($F(11,154) = 9,53; p < 0,001$), но не их взаимодействия ($F(11,154) = 1,17; p = 0,32$) на горизонтальную двигательную активность крыс. Для вертикальной двигательной активности также было выявлено значимое влияние данных факторов ($F(1,14) = 8,97; p < 0,001$ – для фактора «Группа»; $F(11,154) = 10,63; p < 0,05$ – для фактора «Интервал»; $F(11,154) = 2,93; p = 0,002$). Угнетение двигательной активности крыс экспериментальной группы С_О было выражено преимущественно в первый 15-минутный интервал (рис. 2).

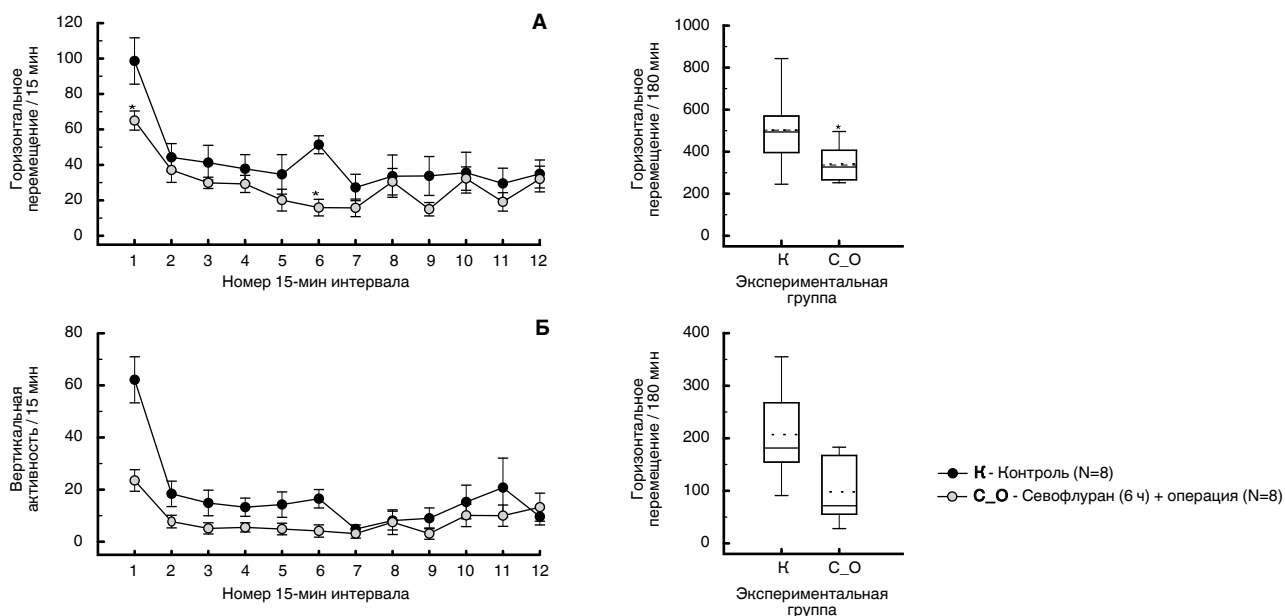


Рис. 2. Горизонтальная (А) и вертикальная (Б) двигательная активность крыс через 15 мин после ограничения движений (группа К) или прекращения анестезии (группа С_О): изменение активности во времени (левая панель) и суммарная двигательная активность за 180 мин (правая панель). Данные представлены в виде средних значений (левая панель) или «ящичков с усами» (правая панель), где «ящички» отражают медиану (сплошная линия), среднее значение (пунктирная линия) и 25-й/75-й процентиля, а «усы» – 10-й и 90-й процентиля, * – $p < 0,05$ значимые отличия по тесту Даннетта

Fig. 2. Horizontal (A) and vertical (B) motion activity of rats in 15 minutes after physical inactivation (Group K) or anesthesia cessation (Group C_O): Changes in motion activity over time (left panel) and total motion activity for 180 minutes (right panel).

The data are presented as average values (left panel) or box-and-whiskers diagram (right panel), where boxes show the median (full line), average value (dotted line) and the 25th/75th percentiles, and whiskers – the 10th and 90th percentiles, * $p < 0.05$ – significant differences of test results from pretest results (Dunnett's test).

Тест «Открытое поле». Тест выполняли по окончании периода восстановления животных после операции (рис. 1). Ни по одному из оцениваемых показателей поведение крыс С_О группы не отличалось от контрольных животных, что сходно с результатами, полученными при исследовании влияния экспозиции галотана и/или операции [3]. В то же время ранее уменьшение длительности заглядываний в отверстия (показатель исследовательской активности) наблюдали у крыс линии Вистар после экспозиции как севофлурана, так и галотана [9]. Однако в этом случае животных содержали в группах и подвергали хронической экспозиции ингаляционных анестетиков (30 дней по 4 ч/день) в субанестетических концентрациях (0,1 и 0,3% для галотана и севофлурана соответственно). При одиночной 2-часовой экспозиции севофлурана уменьшение двигательной активности, оцениваемой по длине пройденного пути в «открытом поле» с ареной 40 × 40 см, было отмечено только у самок (но не самцов) крыс линии Спрег-Дули через сутки после экспозиции, но не через 30, 60 или 90 дней [15]. Двухчасовая экспозиция севофлурана в течение 2 последовательных дней не влияла на двигательную активность мышей линии С57В16/J, регистрируемую в течение 7 последующих дней в «modified hole board test» [6]. Таким образом, полу-

ченные нами результаты в тесте «Открытое поле» в целом не противоречат описанным в литературе.

Тест «Социальное взаимодействие». Ни в один из дней тестирования (рис. 1) поведение крыс С_О группы не отличалось от контроля, тогда как ранее (предыдущее исследование с галотаном) была выявлена пониженная социальная активность животных после длительной экспозиции анестетика и операции [2], свидетельствующая о нарушении у них социальных когнитивных функций. Длительность исследования партнера у крыс группы С_О в обоих тестах в целом была даже чуть больше, чем у контрольных, но влияние фактора «Группа» не достигало уровня значимости ($p = 0,116$). Длительность элементов, отражающих доминирование и агрессивное поведение (угрозы, пинки, перелезание, борьба, укусы и пр.), возрастала у животных обеих групп во втором тесте, то есть по мере увеличения длительности социальной изоляции, однако влияние фактора «Тест» также не достигало уровня значимости ($p = 0,095$).

Экспериментальные данные о влиянии ингаляционных анестетиков на социальное поведение животных весьма малочисленны. Ранее было показано, что пренатальное воздействие севофлурана снижает социальную активность мышей [13], однако отличия как вида экспериментальных животных, так и

их жизненной стадии не позволяют проводить какие-либо сравнения результатов настоящего исследования с данными M. Satomoto et al. [13].

Тест «Распознавание нового объекта». По данным дисперсионного анализа, длительность исследования впервые предъявленных объектов (обнюхивание объектов и тактильный контакт с ними) не отличалась у животных С_О и К групп ($F(1,13) = 0,16; p = 0,70$). Хотя объем выборки крайне мал и мощность теста невелика (0,05), в целом результаты статистического анализа свидетельствуют об отсутствии явного влияния длительности экспозиции севофлурана и операции на процессы, отвечающие за побуждение и деятельность (уровень мотивации). В связи с тем, что на этапе ознакомления 4 животных (50% от $N = 8$) контрольной группы и 2 животных (29% от $N = 7$) группы С_О затратили на исследование какого-либо из двух предъявленных объектов менее 5 с и/или не исследовали какой-либо из объектов (новый или знакомый) в тестах распознавания, результаты тестов с этими животными не вошли в последующий статистический анализ. Выявлено, что фактор «Тест/претест» значимо влиял на исследовательскую активность животных в обоих тестах ($F(1,7) = 7,54; p < 0,05$ – через 1 ч после ознакомления; $F(1,7) = 8,27; p < 0,05$ – через 24 ч после ознакомления). Для крыс контрольной группы было характерно предпочтение нового объекта (индексы предпочтения были значимо больше, чем в претесте; рис. 3), тогда как животные группы С_О исследовали оба объекта в равной степени, что свидетельствует о нарушении распознавания нового объекта.

Тест «Экстраполяционное извлечение». При оценке решения задачи теста (поиск способа извлечения от аверсивных условий при 1-й посадке) выявлено одно животное из С_О группы, которое не поднырнуло под стенку цилиндра в течение 3 мин. Несмотря на это, анализ выживаемости Каплана – Майера не показал межгрупповых различий распределения ЛП подныривания (Log-Rank test – 0,79; $df = 1; p = 0,37$). При последующих посадках в экспериментальную установку межгрупповые отличия ЛП подныривания (рис. 4) также не обнаружены (2-я посадка – Log-Rank test – 0,51; $df = 1; p = 0,47$; 3 посадка – Log-Rank test – 0,33; $df = 1; p = 0,57$). В течение 1-го дня теста изменение длительности ЛП подныривания от посадки к посадке происходило у контрольных (Log-Rank test – 11,21; $df = 2; p = 0,004$), но не у экспериментальных животных (Log-Rank test – 3,37; $df = 2; p = 0,19$). При этом множественные сравнения выявили значимые отличия ЛП подныривания при 2-й и 3-й посадке ($p = 0,005$, тест Холма – Сайдака) у животных контрольной группы. При воспроизведении навыка на 2-й и 7-й день теста распределение ЛП подныривания животных группы С_О значимо отличалось от показателей контроля (рис. 4), 2-й день: Log-Rank test – 4,07; $df = 1; p = 0,044$; 7-й день: Log-Rank test – 5,84; $df = 1; p = 0,016$). Парные сравнения длительно-

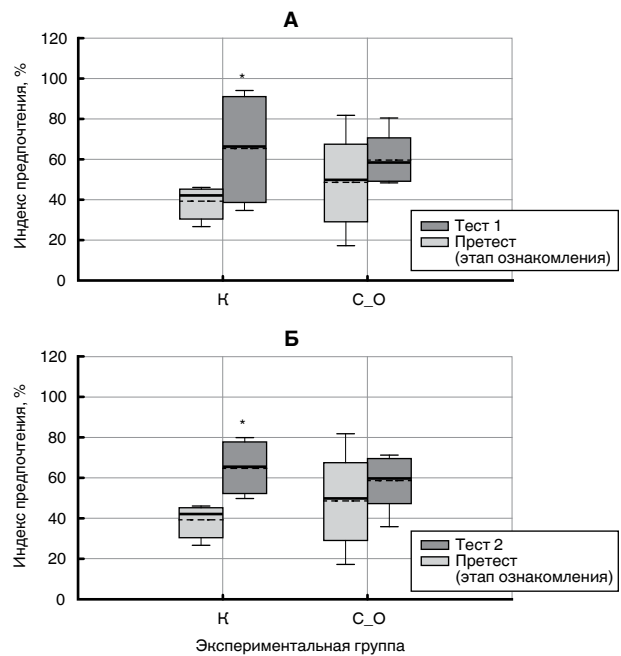


Рис. 3. Распознавание нового объекта: индекс предпочтения, рассчитанный как отношение времени, потраченного на изучение нового объекта, ко времени, потраченному на изучение обоих типов (нового и знакомого) объектов в тестах, проводимых через 1 ч (А) и 24 ч (Б) после этапа ознакомления с определенным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

К – контрольная группа; С_О – экспериментальная группа (Севофлуран + операция). Данные представлены в виде «ящичков с усами», где «ящички» отражают медиану (сплошная линия), среднее значение (пунктирная линия) и 25-й/75-й перцентили, а «усы» – 10-й и 90-й перцентили. Длительность претеста и тестов – 10 мин, $n = 4-5$, * – $p < 0,05$ значимые отличия по тесту Бонферрони показателей теста от показателей претеста

Fig. 3. Novel object recognition: preference index, estimated as ratio of time, spent on the novel object investigation, to 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).

K – control group; C_O – experimental group (Sevoflurane + surgery). The data are presented as box-and-whiskers diagram, where where boxes show the median (full line), average value (dotted line) and the 25th/75th percentiles, and whiskers – the 10th and 90th percentiles. Duration of pretest and test – 10 minutes. $n = 4-5$, * $p < 0.05$ – significant differences of Bonferonni test results and pretest results

сти нахождения крыс в основной части установки и на лестнице не выявили каких-либо межгрупповых различий.

Тест «Форсированное плавание». Поведение крыс оценивали как на этапе выработки «поведенческого отчаяния» (день 14, в течение 15 мин), так и на следующий день (этап оценки депрессивно-подобного поведения, 5 мин). Несмотря на меньшую активность крыс, подвергнутых длительной анестезии севофлураном и операции на органах

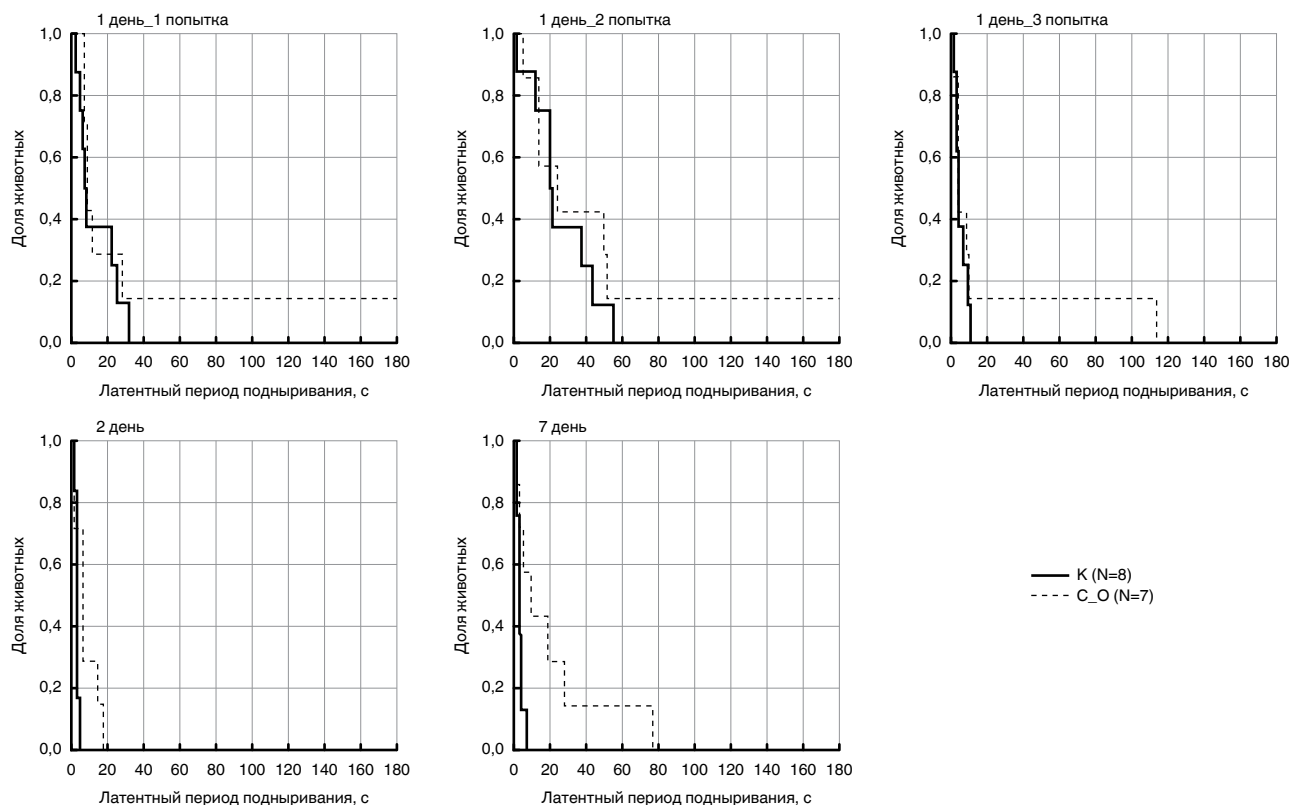


Рис. 4. Экстраполяционное избавление: латентные периоды подныривания под стенку опущенного в воду центрального цилиндра в период выработки (1 день) и воспроизведения навыка (2-й и 7-й дни). К – контрольная группа; C_О – экспериментальная группа (Севофлуран + операция). Распределение длительностей латентных периодов представлено в виде кривых Каплана – Майера. Максимальная длительность теста – 3 мин, N = 7–8, * – $p < 0,05$ значимые отличия от контрольной группы по тесту Холма – Сайдака

Fig. 4. Extrapolational deliverance: latent periods of diving under the wall of central cylinder submerged into water during conditioning period (1 day) and revival of the skill (2nd and 7th day).

K – control group; C_О – experimental group (Sevoflurane + surgery). Distribution of latent periods durations is presented as Kaplan-Meier estimators. Maximum duration of the test is 3 min., N = 7–8, * – $p < 0.05$ confident differences from the control group as per Holm-Sidak test

брюшной полости, показатели их поведения не отличались значимо от контроля. Однако количество оставленных в воде фекальных болюсов было значимо меньше у крыс C_О группы ($t = -2,516$; $df = 13$; $p = 0,026$), чем у контрольных животных ($5,1 \pm 0,9$ по сравнению с $2,0 \pm 0,8$ соответственно), что может свидетельствовать о некотором снижении уровня эмоционального реагирования крыс после длительного воздействия парами севофлурана и операции на органах брюшной полости.

Тест «Половое поведение». Все самцы, использованные в эксперименте, не имели ранее опыта взаимодействия с рецептивной самкой. Несмотря на то что один самец из группы C_О оказался инертным, а инициация полового поведения у остальных крыс из этой группы происходила чуть медленнее, анализ выживаемости Каплана – Майера не показал значимых межгрупповых различий ни для ЛП садки (Log-Rank test – 0,33; $df = 1$; $p = 0,57$), ни для ЛП интромиссии (Log-Rank test – 0,04; $df = 1$; $p = 0,85$). Не выявлено также влияния длительной анестезии севофлураном и операции на органах брюшной полости на общую потенцию самцов крыс, оцениваемую по количеству эякуляций ($t = 0,7$; $df = 13$; $p = 0,50$).

Заклучение

Результаты исследования показали, что поведение крыс, испытавших длительное воздействие паров севофлурана и операцию на органах брюшной полости, отличается от поведения контрольных животных в ряде тестов, обнаруживая тем самым когнитивный дефицит у экспериментальных животных. Ранее, при использовании аналогичного дизайна исследования, когнитивный дефицит был выявлен у самцов крыс, подвергшихся анестезии галотаном и такой же модельной операции [2], однако общий профиль последствий воздействия галотана и севофлурана имеет ряд отличий. Оба ингаляционных анестетика ухудшают распознавание новых объектов и снижают уровень эмоционального реагирования в тесте «Форсированное плавание», но не влияют значимо на двигательную активность в условиях новизны обстановки и половое поведение самцов крыс. В отличие от галотана, севофлуран в меньшей степени влияет на психоэмоциональное состояние крыс в послеоперационный период, поскольку не увеличивает их «депрессивность» (тест «Форсированное плавание») и не уменьшает социальность (тест «Социальное взаимодействие»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них 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», № госрегистрации 115091630050.

Благодарность: авторы выражают глубокую признательность сотрудникам отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана М. Г. Семиной и М. В. Дорофейковой за помощь в выполнении отдельных поведенческих тестов.

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.

Gratitude: the authors express their sincere gratitude to M.G. Seminaya and M.V. Dorofeykova, working at Psychopharmacology Department of A.V. Valdman Pharmacology Institute, for their contribution into testing certain behavioral aspects.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

- Белозерцева И. В. Экспериментальная фармакология полового поведения // Фармакология поведения: Хрестоматия / под ред. А. Ю. Беспалова, Э. Э. Звартау, П. Бирдсли, Дж. Катца. – СПб.: СПбГМУ, 2013. – С. 105–137.
- Белозерцева И. В., Драволина О. А., Кривов В. О. и др. Экспериментальное моделирование послеоперационных когнитивных расстройств у крыс // Вестн. анестезиол. и реаниматол. – 2016. – Т. 13. – № 5. – С. 37–49.
- 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.: СПбГМУ, 2014. – 79 с.
- Abel E. L., Bilitzke P. J. A possible alarm substance in the forced swimming test // *Physiol. Behav.* – 1990. – Vol. 48. – P. 233–239.
- 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.
- Haseneder R., Starker L., Berkman J. et al. Sevoflurane anesthesia improves cognitive performance in mice, but does not influence in vitro long-term potentiation in hippocampus CA1 stratum radiatum // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8, № 5. – P. e64732.
- Hovens I. B., Schoemaker R. G., van der Zee E. A. et al. Surgery-induced behavioral changes in aged rats // *Exp. Gerontol.* – 2013. – Vol. 48, № 11. – P. 1204–1211.
- Hovens I. B., Schoemaker R. G., van der Zee E. A. et al. Thinking through postoperative cognitive dysfunction: How to bridge the gap between clinical and pre-clinical perspectives // *Brain. Behav. Immun.* – 2012. – Vol. 26. – P. 1169–1179.
- 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 a des concentrations sous-anesthésiques d'halothane, de sevoflurane et de desflurane chez les rats] // *Can. J. Anesth.* – 2006. – Vol. 53, № 7. – P. 653–658.
- 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.
- Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // *Nature.* – 1977. – Vol. 266. – P. 730–732.
- 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.
- 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.
- Stratmann G. Neurotoxicity of anesthetic drugs in the developing brain // *Anesth. Analg.* – 2011. – Vol. 113. – P. 1170–1179.
- Xie H., She G.-M., Wang C. et al. The gender difference in effect of sevoflurane exposure on cognitive function and hippocampus neuronal apoptosis in rats // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2015. – Vol. 19. – P. 647–657.
- 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. (In Russ.)
- Belozertseva I.V., Dravolina O.A., Krivov V.O. et al. Experimental simulation of post-operative cognitive disorders in rats. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2016, vol. 13, no. 5. pp. 37-49. (In Russ.)
- Belozertseva I.V., Dravolina O.A., Tur M.V. *Rukovodstvo po ispolovaniyu laboratornykh zhivotnykh dlya nauchnykh i uchebnykh tseyey 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.
- Abel E.L., Bilitzke P.J. A possible alarm substance in the forced swimming test. *Physiol. Behav.*, 1990, vol. 48, pp. 233-239.
- 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.
- Haseneder R., Starker L., Berkman J. et al. Sevoflurane anesthesia improves cognitive performance in mice, but does not influence in vitro long-term potentiation in hippocampus CA1 stratum radiatum. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 5, pp. e64732.
- Hovens I.B., Schoemaker R.G., van der Zee E.A. et al. Surgery-induced behavioral changes in aged rats. *Exp. Gerontol.*, 2013, vol. 48, no. 11, pp. 1204-1211.
- Hovens I.B., Schoemaker R.G., van der Zee E.A. et al. Thinking through postoperative cognitive dysfunction: How to bridge the gap between clinical and pre-clinical perspectives. *Brain. Behav. Immun.*, 2012, vol. 26, pp. 1169-1179.
- 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 a des concentrations sous-anesthésiques d'halothane, de sevoflurane et de desflurane chez les rats]. *Can. J. Anesth.*, 2006, vol. 53, no. 7, pp. 653-658.
- 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.
- Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 1977, vol. 266, pp. 730-732.
- 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.
- 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.
- Stratmann G. Neurotoxicity of anesthetic drugs in the developing brain. *Anesth. Analg.*, 2011, vol. 113, pp. 1170-1179.
- Xie H., She G.M., Wang C. et al. The gender difference in effect of sevoflurane exposure on cognitive function and hippocampus neuronal apoptosis in rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2015, vol. 19, pp. 647-657.

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.
Тел.: 8 (812) 338–67–14.

Белозерцева Ирина Владимировна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией
экспериментальных доклинических исследований
с виварием Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
E-mail: belozertseva@gmail.com

Драволина Ольга Андреевна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией
экспериментальной фармакологии аддиктивных
состояний Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
E-mail: olga.dravolina@gmail.com

Кривов Владислав Олегович

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

Тур Маргарита Алексеевна

младший научный сотрудник лаборатории
экспериментальных доклинических исследований
с виварием Института фармакологии им. А. В. Вальдмана.
E-mail: vol4onok_07@mail.ru

Мус Людмила Викторовна

кандидат биологических наук, младший научный
сотрудник лаборатории экспериментальных
доклинических исследований с виварием Института
фармакологии им. А. В. Вальдмана.
E-mail: liudmila.mus@gmail.com

Полушин Юрий Сергеевич

академик РАН, профессор, доктор медицинских наук,
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,
6-8, Lva Tolstogo St.,
St. Petersburg, 197022
Phone: +7 (812) 338-67-14.

Irina V. Belozertseva

Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory
for Experimental Preclinical Trials with Vivarium
of A.V. Valdman Pharmacology Institute.
E-mail: belozertseva@gmail.com

Olga A. Dravolina

Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory
for Experimental Pharmacology of Addictions by A.V. Valdman
Pharmacology Institute.
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: duffjwinehouse@yandex.ru

Margarita A. Tur

Junior Researcher of Laboratory f
or Experimental Preclinical Trials with Vivarium
of A.V. Valdman Pharmacology Institute.
E-mail: vol4onok_07@mail.ru

Lyudmila V. Mus

Candidate of Biological Sciences,
Junior Researcher of Laboratory
for Experimental Preclinical Trials with Vivarium
of A.V. Valdman Pharmacology Institute.
E-mail: liudmila.mus@gmail.com

Yury S. Polushin

Academician of RAS, Professor, Doctor of Medical Sciences,
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