

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕЙРОНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕВОФЛУРАНА И ИХ РОЛЬ В МЕХАНИЗМАХ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ И ЦИТОПРОТЕКЦИИ

А. И. Вислобоков, Ю. С. Полушин, А. Ю. Полушин, В. В. Алферова

THE CHANGES OF THE ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF NEURONS BY THE ACTION OF SEVOFLURANE AND THEIR ROLE IN THE MECHANISMS OF PRECONDITIONING AND CYTOPROTECTION

A. I. Vislobokov, Yu. S. Polushin, A. Yu. Polushin, V. V. Alferova

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, RF

На идентифицируемых интактных нейронах изолированной центральной нервной системы моллюска катушки роговой (*Planorbarius corneus*) с помощью внутриклеточных микроэлектродов проведены исследования изменений внутриклеточных потенциалов под влиянием севофлурана. Наблюдалась двухфазная реакция де- и гиперполяризации нейронов. Севофлуран в концентрации 2 мМ деполяризовал нейроны (до 5 мВ), деполяризация сменялась незначительной гиперполяризацией (на 2–5 мВ). При деполяризации частота импульсной активности (ИА) возрастала, при гиперполяризации – снижалась, параметры потенциалов действия (ПД) изменялись незначительно. После удаления анестетика в течение 5–10 мин возникала обратимая гиперполяризация. Севофлуран в концентрации 5 мМ кратковременно и обратимо деполяризовал нейроны на $9,4 \pm 2,2\%$ от контроля, при этом возрастала частота ИА, снижалась амплитуда ПД, возрастала их длительность и иногда полностью подавлялась генерация ПД. На фоне действия севофлурана в концентрации 5 мМ развивается обратимая гиперполяризация нейронов до $18,1 \pm 16,9\%$ от контроля, которая продолжается до 15–20 мин и после действия.

Повторное воздействие анестетиком на тот же нейрон всегда воспроизводилось, оно сопровождалось большей выраженностью гиперполяризации.

Модуляция электрической активности севофлураном (гиперполяризация нейронов и снижение/прекращение генерации ПД, свидетельствующие об «улучшении» их функционального состояния) может лежать в основе preconditioning, нейро- и кардиопротекции.

Ключевые слова: *Planorbarius corneus*, севофлуран, цитопротекция, потенциал покоя, потенциал действия, импульсная активность.

The changes of the intracellular potentials by the action of sevoflurane were studied for the diagnostic intact neurons of the isolated cerebrospinal axis of the *Planorbarius corneus* using intracellular electrodes. There observed a two-phase reaction of the neurons de- and hyperpolarization. The sevoflurane concentration of 2 mM depolarized the neurons (to 5 mV), the depolarization was interchanged with the mild hyperpolarization (at 2-5 mV). The impulse activity rate (IA) increased under depolarization, while decreased under hyperpolarization, the parameters of the action potentials (AP) changed slightly. The inversive hyperpolarization occurred for 5-10 minutes upon the anesthetic elimination. There occurred the short-term and inversive depolarization of the neurons at the sevoflurane concentration of 5 mM to $9,4 \pm 2,2\%$ of the reference, while the IA rate increased, the amplitude of the action potentials decreased with their duration increase, and sometimes the AP generation was completely abrogated. On action of sevoflurane concentration of 5 mM there developed the inversive hyperpolarization of the neurons to $18,1 \pm 16,9\%$ of the reference, that lasted 15-20 minutes thereafter.

The repeated neuron exposure with the same anesthetic is always reproduced followed by the florid hyperpolarization.

The modulation of the electrical activity with sevoflurane (the hyperpolarization of the neurons and the decrease/termination of AP generation that evidenced the "improvement" of their functional status) may be the basis for the preconditioning, neuro- and cardioprotection.

Key words: *Planorbarius corneus*, sevoflurane, cytoprotection, resting potential, action potential, impulse activity.

Ингаляционный фторсодержащий анестетик севофлуран [фторметил-2,2,2-трифтор-1-(трифторметил) этиловый эфир] удачно сочетает ряд свойств, обеспечивающих его эффективное использование в составе анестезиологических методик. Имеются сведения о том, что, наряду с анестетическими свойствами, для него характерны явления прекондиционирования, нейро- и кардиопротекции [5–7, 10, 14, 16, 17, 19, 23, 24]. Например, прекондиционирование севофлураном проявляется в предупреждении вызванных ишемией/реперфузией изменений в кардиомиоцитах. При этом высказывается мнение, что ведущим механизмом фармакологического прекондиционирования является регуляция кальциевой проницаемости мембран митохондрий [12, 15, 17, 24]. G. Matei, R. Pavlik, T. McCadden et al. [18] продемонстрировали эффект прекондиционирования севофлураном с последующей церебропротекцией при неполной ишемии в эксперименте: улучшенное восстановление пирамидальных клеток CA1 крыс возникало при его использовании в концентрациях, применяемых при операциях у человека [13, 18, 26].

Преко́ндицио́нирование – процесс, возникающий после одного или нескольких эпизодов воздействия на клетку, ткань, орган или организм, приводящий к повышению функциональной устойчивости при последующих воздействиях на них.

Нейропротекция (кардиопротекция) – мероприятия, которые препятствуют или замедляют повреждение ткани мозга (миокарда), а также способствуют восстановлению нервных и глиальных клеток (кардиомиоцитов). Они могут быть нефармакологическими (контроль артериального давления, температуры, парциального давления кислорода, гликемии, применение гипотермии и пр.) или фармакологическими (с использованием препаратов, воздействующих на звенья ишемического каскада).

Преко́ндицио́нирование, нейро- и кардиопротекция – известные физиологические адаптационные феномены [7, 24]. Адаптация, как приспособление живых систем к изменяющимся условиям окружающей их среды, осуществляется непрерывно и на разных уровнях организации – организменном, органно-тканевом, клеточном и молекулярном. Конечным ключевым этапом расширения функциональных возможностей для активности организма является адаптация клеток к деятельности в новых условиях. В процесс адаптации клеток включаются сотни молекулярных физико-химических взаимосвязанных и взаимообуславливающих процессов. Знание всех их и составляет основу понимания механизмов адаптации и целенаправленного воздействия на них – управления ими.

Восстановление функциональной активности клеток – общий и основной эффект, который достигается при фармакологическом преко́ндицио́нировании, нейро- и кардиопротекции, в том

числе и от использования севофлурана. Известно, что важнейшей функцией мембран клеток для обеспечения их деятельности является поддержание необходимого уровня потенциала покоя (ПП). Следует сделать предположение, что изучение влияния севофлурана на электрофизиологические свойства мембран может помочь в трактовке механизмов вышеупомянутых адаптивных процессов. Причём поскольку нервные клетки и кардиомиоциты имеют много общего в организации и функционировании их электровозбудимых мембран, то экспериментальные данные об эффектах севофлурана на нейроны вполне оправданно экстраполировать на кардиомиоциты.

Установлено, что важное значение в реализации некоторых видов преко́ндицио́нирования в сердце, не связанных с действием ингаляционных анестетиков, имеет активация АТФ-чувствительных калиевых каналов [4, 5], приводящая к гиперполяризации клеток. Гиперполяризация клеток устраняет инактивацию ионных каналов, создаёт лучшие условия для генерации потенциала действия (ПД), синаптических потенциалов и межклеточных взаимодействий. Данное обстоятельство является лишним доказательством необходимости изучения влияния севофлурана на электрофизиологическое состояние нейронов, чтобы оценить, действительно ли он влияет на механизмы, лежащие в основе преко́ндицио́нирования, нейро- и кардиопротекции.

Цель работы – изучение изменений биопотенциалов нейронов под влиянием севофлурана и поиск электрофизиологических коррелятов для понимания механизмов преко́ндицио́нирования и цитопротекции.

Материалы и методы

Исследование проведено с использованием идентифицированных нейронов pedalных ганглиев ППед1 и ЛПед1 моллюска катушки *Planorbarius corneus* (63 нейрона pedalных ганглиев 27 экземпляров ЦНС).

Методическая часть эксперимента, отражающая технологию выделения ЦНС и изолированных нейронов моллюска, регистрации биопотенциалов (ПП, ПД, импульсной активности – ИА) идентифицируемых (100–200 мкм) интактных нейронов и фиксации потенциала изолированных нейронов, в том числе при воздействии на них анестетика, была детально описана ранее [1–3].

В данной работе оценке подвергали не только первичный (изменения электрофизиологических свойств мембраны и ионных токов при первом внеклеточном приложении), но и повторные (на том же нейроне) эффекты от воздействия разных концентраций севофлурана на нейроны.

Для приготовления раствора севофлурана с различными концентрациями использовали ме-

тодику, рекомендованную H. U. Weigt, W. M. Kwok, G. C. Rehmer et al. [25], – препарат вводили в физиологический раствор до насыщения – 5 мМ, а затем разбавляли до необходимой концентрации (0,5; 1,0; 2 мМ). Соответствие концентраций анестетика значениям величины МАК при этом приблизительно составило: 2 мМ = 4,54 МАК; 5 мМ = 11,36 МАК.

Статистическую обработку изменений параметров электрической активности нейронов выполняли с помощью фрагмента программы Bioactivity Recorder v5.32b [8], встроенной в программу для обслуживания АЦП L-791, а изменений ПП – с помощью статистической программы R [22]. Использовали непараметрический тест Фридмана для связанных выборок. Анализ post-hoc проводили в виде парных сравнений полученных измерений с исходной точкой (нормой) с помощью непараметрического теста Уилкоксона для связанных выборок с поправкой FDR на множественность сравнений.

Результаты и обсуждение

А. Эффекты первичного воздействия различных концентраций севофлурана на нейроны (изменения электрофизиологических свойств мембраны) при внеклеточном приложении

Данные о динамике изменений биопотенциалов и ионных токов под влиянием севофлурана при однократном их воздействии на нейроны частично были представлены в предыдущей статье [1], но существенно дополнены в ходе последующих экспериментов. ПП большинства нейронов катушки ($n = 25$) в их исходном состоянии составил $-58,3 \pm 2,7$ мВ, что свидетельствовало о «хорошем» функциональном состоянии и позволяло приступить к реализации задач исследования. Установлено, что в таких нейронах севофлуран в концентрации 1 мМ вызывал незначительные и разнонаправленные изменения ПП: деполяризацию на $3,5 \pm 2,8$ ($n = 4$) или столь же незначительную гиперполяризацию на $-4,8 \pm 5,3$ мВ ($n = 6$).

На нейронах с низким исходным уровнем ПП (-45 – 50 мВ) ($n = 3$) воздействие севофлурана в этой же концентрации вызывало усиление поляризации мембраны (гиперполяризацию), которая при отмывании (т. е. удалении анестетика посредством промывания физиологическим раствором) какое-то время сохранялась. Затем, по мере возвращения ПП к исходному уровню, генерация ПД восстанавливалась.

Классические представления о физиологии клетки предусматривают, что гиперполяризация нейронов способствует снятию исходной инактивации ионных каналов и ведёт к увеличению их числа, находящихся в состоянии «покоя», и готовности к открытию при следующем воздействии, ведущем к деполяризации. Полученные данные это косвенно подтвердили. Такое состояние, сопровождающее-

ся улучшением состояния и готовности мембраны к формированию ПД, соответствует представлениям о прекодиционировании.

В концентрации 5 мМ при длительном (более 5 мин) действии анестетика в 35% случаев в нейронах имела место гиперполяризация с отклонением потенциала на $-5,7 \pm 1,4$ мВ от исходного уровня ($n = 6$), которая сохранялась в течение 5–7 мин и после отмывания. Затем ПП постепенно достигал исходных величин, регистрировали редкие ПД с восстановлением исходного характера ИА. В остальных случаях наблюдали двоякую реакцию – сначала де-, а затем гиперполяризация. При этом фаза деполяризации была кратковременной (около 1 мин), фаза же гиперполяризации сохранялась длительное время, в том числе и после окончания действия севофлурана.

Неожиданностью оказалось то, что при кратковременном воздействии севофлурана (до 1 мин) в этой же концентрации ($n = 8$) не зафиксировали гиперполяризации: развивалась только значительная (на $10,4 \pm 6,5$ мВ) и стойкая деполяризация с учащением ИА, но с существенным снижением амплитуд ПД, вплоть до прекращения активности.

Изменения амплитуд суммарных входящих (натрий-кальциевых) и выходящих калиевых медленных токов под влиянием севофлурана исследовали в концентрациях 0,5; 1,0; 2,5 и 5 мМ. Показаны зависимое от концентрации их подавление и почти полное подавление тока под влиянием севофлурана в концентрации 5 мМ. Восстановление амплитуд ионных токов после действия севофлурана в концентрациях 0,5; 1 и 2,5 мМ до исходных значений происходило полностью за 5–8 мин, а в концентрации 5 мМ – за 10–15 мин и не полностью (до 70–80%).

Таким образом, полученные данные выявили дозозависимые эффекты севофлурана: малые концентрации (1 мМ) вызывали незначительные изменения биопотенциалов клетки, а очень большие (5 мМ) – довольно выраженные и стойкие. Можно полагать, что разная степень подавления в нейронах амплитуд суммарных входящих (натрий-кальциевых) и выходящих калиевых медленных токов севофлураном и лежала в основе развивавшихся изменений ПД клетки. Изменения ПП менее понятны: возможно, что из-за устремления натрия в клетку и задержки выхода калия из клетки возникла деполяризация, а затем при подавлении входа натрия в клетку и усилении выхода калия из клетки имела место гиперполяризация. Удаление анестетика приводило к восстановлению ПП, но при использовании разных концентраций или при различной продолжительности воздействия севофлурана это происходило неодинаково. В конечном счёте изменения ПП – гипер- или деполяризация – препятствовали формированию нормального ПД в нейронах.

Б. Эффекты повторного воздействия севофлурана на электрофизиологические свойства мембраны при внеклеточном приложении

В данной части работы исследованы только 2 концентрации севофлурана – 2 мМ (средняя концентрация) и 5 мМ (максимально возможная концентрация), главное внимание было уделено его повторным эффектам на одном и том же нейроне.

Поскольку результаты, в зависимости от концентрации и продолжительности воздействия севофлурана, всегда воспроизводились, то для упрощения восприятия наиболее типичные изменения представляем конкретными примерами.

Пример № 1. На рис. 1а представлен пример монофазной реакции (гиперполяризации) нейрона ППед1 на севофлуран в концентрации 2 мМ.

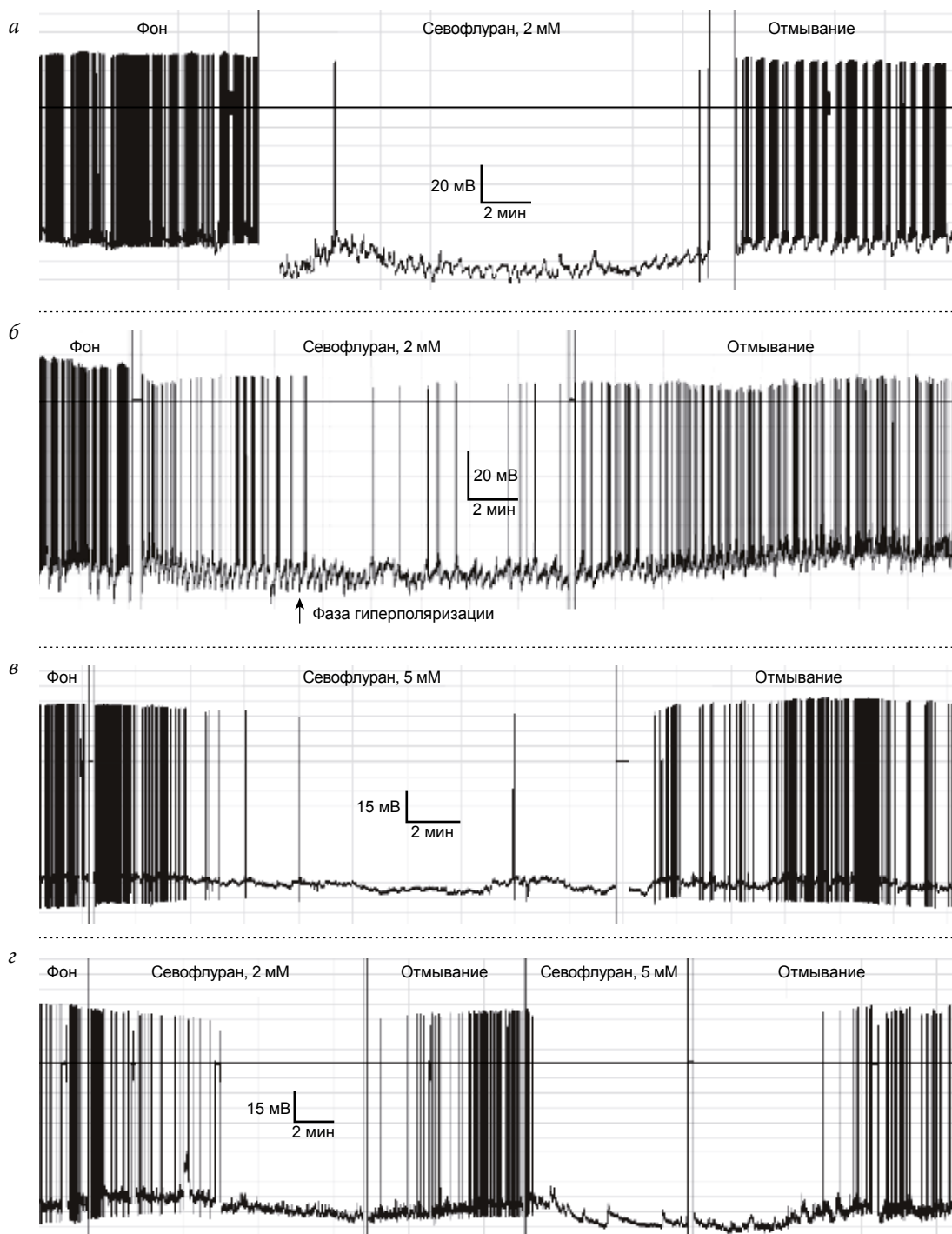


Рис. 1. Изменения электрической активности нейронов катушки под влиянием севофлурана; а – нейрон ППед1 (первое воздействие); б – тот же нейрон (повторное действие); в – другой нейрон ППед1; г – реакции нейрона ещё одного ППед1нейрона на севофлуран в концентрациях 2 и 5 мМ. Объяснения в тексте

При этом генерация ПД после подачи севофлурана почти прекратилась, а редко возникающие ПД имели увеличенную амплитуду. Регистрировали возбуждающие постсинаптические потенциалы с увеличенной амплитудой, но из-за гиперполяризации они не достигали критического уровня деполяризации (КУД) – возбудимость нейрона была снижена, генерации ПД не происходило. В процессе отмывания севофлурана уровень ПП возвращался к исходному, генерация ПД восстанавливалась, но вместо одиночных ПД возникали пачки ПД, что указывало на неполное восстановление исходного состояния, на сохранение «последствия» севофлурана.

Повторное действие севофлурана на этот нейрон после почти полного восстановления его фоновой активности (через 20 мин после первого воздействия) в той же концентрации (рис. 1б) также сопровождалось развитием гиперполяризации (стрелкой вверх показано начало новой фазы гиперполяризации), но менее выраженной, чем та, которая была при первом воздействии. При втором воздействии регистрировали единичные ПД, которых не было при первом воздействии. В процессе отмывания севофлурана уровень ПП за наблюдаемое время так и не возвратился к исходному, генерация более редких ПД восстанавливалась, что, как и при первом воздействии, указывало на сохранение «последствия» севофлурана. Особенность повторного воздействия севофлурана по сравнению с первичным заключалась в воспроизведении фазы гиперполяризации нейронов, свидетельствующей об улучшении их функционального состояния.

Рис. 1в отражает реакцию нейрона ППед1 другого экземпляра моллюска на воздействие севофлурана в концентрации 5 мМ в течение 20 мин. Небольшая начальная фаза деполяризации нейрона в течение 2 мин сопровождалась снижением амплитуд ПД. В дальнейшем фаза деполяризации сменилась гиперполяризацией, хотя и не очень выраженной, которая сохранялась в течение 15 мин после окончания действия севофлурана и сопровождалась урежением и практически полным подавлением ПД. При отмывании севофлурана шло восстановление генерации ПД, их амплитуда на фоне гиперполяризации возросла, но только к концу 15-минутного интервала.

Отчётливое развитие гиперполяризации в ответ на повторное воздействие севофлураном в концентрации 5 мМ после предыдущего его введения в дозе 2 мМ на нейроне ППед1 продемонстрировано на рис. 1г. Изначально после подачи севофлурана (2 мМ) имела место де- и гиперполяризационная реакция, отмывание привело к восстановлению фоновой ИА. Последующее действие севофлурана быстро привело к гиперполяризации нейрона, которая сохранялась и после окончания его действия. Необходимо подчеркнуть, что признаков необратимого повреждения нейрона севофлураном, в том числе

при использовании его в очень высокой концентрации (5 мМ) не наблюдалось. Скорее, можно было говорить о признаках улучшения его функционального состояния.

Таким образом, эффекты севофлурана во всех четырёх экспериментах характеризовались некоторым периодом последствия, проявившимся в нарушении характера возникавших ПД. Повторное воздействие приводило к отчётливой гиперполяризации, имеющей благоприятные последствия для клетки за счёт увеличения числа готовых к открытию ионных каналов. Хотя само действие севофлурана приводит к подавлению токов потенциалопределяемых ионных каналов, но эффекты гиперполяризации преобладают над этим подавлением. В совокупности это можно считать проявлением прекодиционирующего и нейропротективного эффекта севофлурана.

Пример № 2 с многократным воздействием анестетика. На первое воздействие севофлурана в концентрации 2 мМ (рис. 2а) развилась совсем небольшая деполяризация, произошло увеличение частоты ПД без изменения их амплитуды. Далее, при повторном воздействии севофлурана в концентрации 5 мМ, на фоне начавшейся слабой гиперполяризации происходило уменьшение частоты ПД с небольшим снижением их амплитуды. Затем, при нарастании гиперполяризации, генерация ПД прекращалась, что, судя по всему, было обусловлено инактивацией натрий/кальциевых и калиевых каналов под влиянием большой дозы анестетика. При отмывании около 5 мин сохранялась возникшая гиперполяризация нейрона и далее генерация ПД восстанавливалась.

Повторное воздействие (через 20 мин) на этот нейрон севофлурана в концентрации 2 мМ в течение 25 мин (рис. 2б) приводило к более выраженной фазе гиперполяризации со снижением частоты ПД при их неизменной амплитуде. При отмывании севофлурана на фоне сохраняющейся небольшой гиперполяризации нейрона генерация ПД восстанавливалась, что свидетельствовало о небольшом улучшении функционального состояния.

Ещё одно последующее (третье) (через 20 мин) воздействие 2 мМ севофлурана на этот нейрон (рис. 2в) привело как к более выраженной начальной деполяризации нейрона со снижением амплитуд ПД, так и к последующей сильно выраженной гиперполяризацией, похожей на действие севофлурана в концентрации 5 мМ. При отмывании гиперполяризация нейрона сохранялась более 50 мин. Полагаем, что эффекты прекодиционирования и нейропротекции в этом эксперименте также проявились достаточно явно, поскольку многократные воздействия на нейрон анестетика приводили к формированию всё более стойкой гиперполяризации и его «успокоению» (снижению частоты и амплитуды ПД).

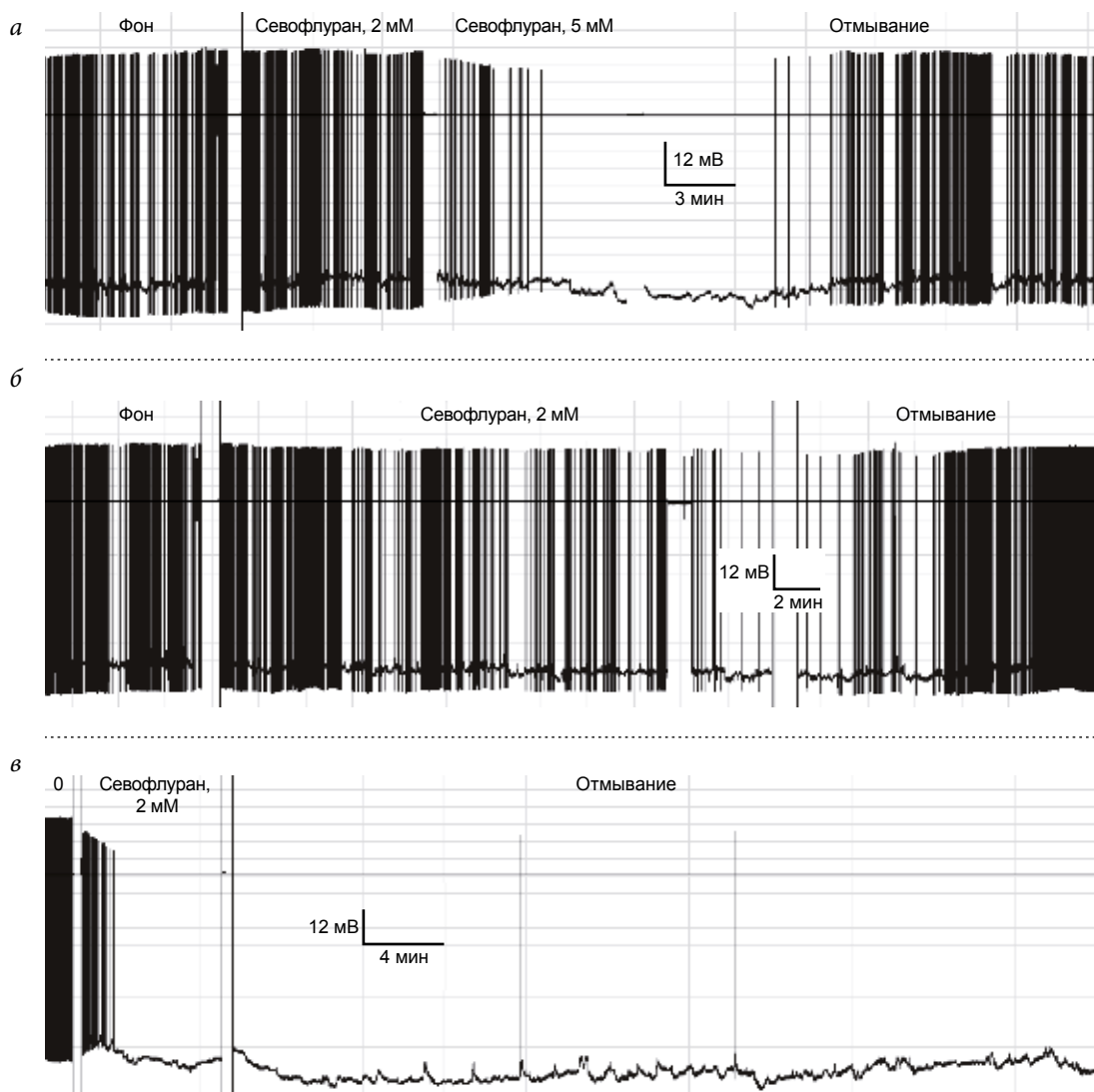


Рис. 2. Изменения электрической активности нейронов катушки под влиянием севофлурана; а – нейрон ППед1 (первое воздействие); б – тот же нейрон (повторное действие); в – тот же нейрон (третье воздействие)

Пример № 3. Помимо изменений ПП, параметров ПД и ИА, при действии севофлурана изменяются и синаптические потенциалы, что вполне естественно, так как они зависят от уровня ПП. На рис. 3а показана необычная реакция ещё одного нейрона ЛПед1, который исходно гиперполяризован и был «молчащим», в нём генерировались постсинаптические «тормозные» потенциалы (ТПСП) (рис. 3б) и низкоамплитудные деполяризационные локальные потенциалы «ритмоводителя» (обозначено стрелкой вниз на рис. 3в, в начале регистрации). На действие 2 мМ севофлурана на фоне слабо выраженных изменений ПП частота ТПСП возрастала, их амплитуда снижалась, а на фоне увеличенных по амплитуде потенциалов «ритмоводителя» иногда стали появляться ПД (рис. 3в).

После отмывания севофлурана амплитуда волн «ритмоводителя» снизилась, снова были только

ТПСП, их частота и амплитуда восстанавливались до исходных (рис. 3г). Этот пример, как и предыдущие, демонстрирует возможности севофлурана изменять (модулировать) функциональное состояние и активность нейронов как при действии, так и после своего действия, т. е. подтверждает его возможности для пре-, посткондиционирования и цитопroteкции.

Заключение

Исследования влияния ингаляционных анестетиков на организм и его системы, в том числе на клеточно-молекулярном уровне, интересуют многих исследователей; они продолжают, уточняются молекулярные механизмы и места связывания в клетке [10, 27, 28]. При этом лиганд-зависимые ионные каналы, глициновые рецепторы, нейрональные никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, рецепторы

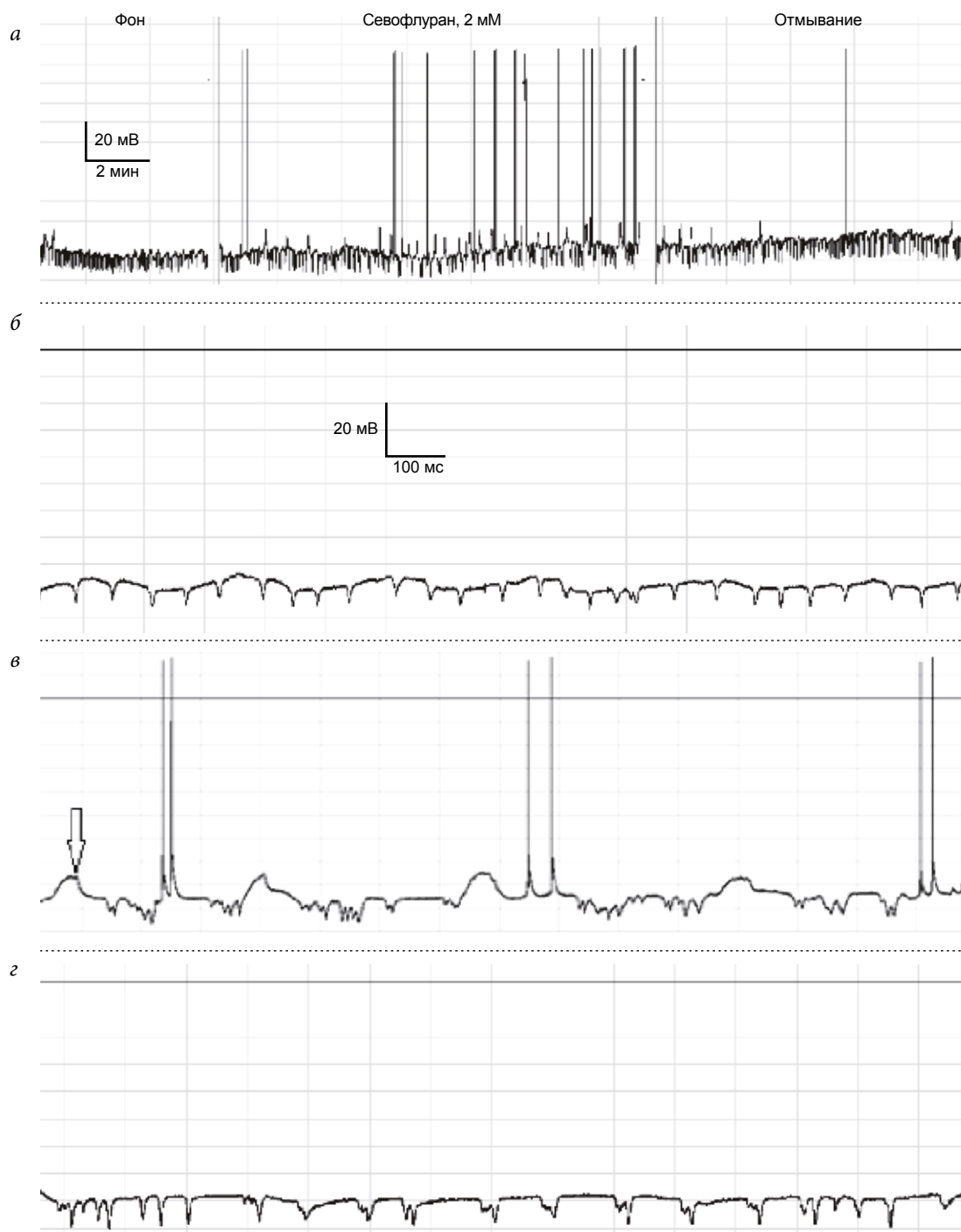


Рис. 3. Изменения электрической активности нейронов катушки под влиянием севофлурана; а – нейрон ЛПед1; б–г – развертка во времени записи ИА на а: б – фон (контроль); в – 2 мМ севофлурана; г – отмывание

NMDA и глутамата, а также потенциалозависимые ионные каналы (кальциевые, калиевые и натриевые) рассматривают как молекулярные мишени [9, 11, 20, 21, 25] для различных ингаляционных анестетиков, подавляющих амплитуды потенциалов и ионные токи.

Начальная фаза деполяризации клеток может объясняться изменениями пассивной проницаемости клеточных мембран к ионам натрия и калия

(входом ионов натрия в нейрон, уменьшением выхода ионов калия), подавлением электрогенной части в работе натрий-калиевого насоса под влиянием анестетика и в особенности в концентрации 5 мМ. Истинные молекулярные механизмы деполяризующего действия севофлурана на клетки пока не ясны [28]. Создается впечатление, что она просто выступает в качестве фактора, инициирующего вторую фазу – гиперполяризации.

Гиперполяризация нейронов при действии севофлурана может быть связана с активацией АТФ-зависимых ионных каналов, с активацией электрогенного транспорта ионов натрия из клетки, со снижением пассивной проницаемости мембраны к ионам натрия в клетку или увеличением проницаемости к ионам калия из клетки. Молекулярные механизмы гиперполяризующих эффектов севофлурана в полной мере не выяснены, но можно полагать, что улучшая функционирование клеток, гиперполяризация мембран может быть основой механизма preconditionирования, нейро- и кардиопротекции. Снижение частоты ИА при гиперполяризации клеток, вероятно, обусловлено снижением возбудимости клеток как вследствие самой гиперполяризации, так и блокирования анестетиками части каналов входящего тока для ионов натрия и кальция. Увеличение частоты ИА при деполяризации связано преимущественно с повышением возбудимости нейронов, со снижением КУД для возникновения ПД. Отчасти последним обусловлена и генерация пачек импульсов под влиянием анестетиков, что может вести к усиленному выбросу медиаторов.

Блокада пресинаптических ПД, связанных с Na^+ - и Ca^{2+} -каналами, приводит к уменьшению выброса нейромедиаторов [9, 23, 27]. Характер подавления ионных токов различными ингаляционными анестетиками неодинаков. Например, для натриевых каналов по степени подавления они располагаются в ряд: галотан > изофлуран = севофлуран > энфлуран > десфлуран [21]. Подавление амплитуд ионных токов севофлураном может происходить из-за непосредственного блокирования ионных каналов для соответствующих ионов (натрия, кальция и калия); нельзя исключить и нарушение функции ионных каналов при насыщении анестетиками липидной части мембран.

В целом полученные результаты согласуются с известными из литературы фактами как по эффектам прямого воздействия на нервные клетки, так и по диапазону эффективных концентраций ингаляционных анестетиков. На основании результатов настоящей работы и учитывая данные литературы, можно говорить о тройственном электрофизиологическом действии севофлурана на нейроны: незначительная начальная деполяризация, дальнейшая гиперполяризация клеток, незначительное подавление ионных токов (блокирование ионных каналов), снижение эффективности синаптических взаимодействий. В совокупности эти эффекты способствуют снижению возбудимости нейронов, подавлению активности нейронных сетей, притормаживанию («успокоению») их деятельности, что может быть ассоциировано со способностью препарата отключать сознание, а также оказывать preconditionирование, нейро- и кардиопротекцию.

Выводы

1. Ингаляционный анестетик севофлуран дозозависимо и обратимо изменяет электрическую активность нейронов моллюсков. В концентрации 2 мМ он обратимо вызывает де- или гиперполяризацию нейронов на 2–6 мВ. При гиперполяризации снижается частота ИА, при деполяризации она возрастает, параметры ПД изменяются незначительно.

2. Севофлуран в концентрации 5 мМ в первую фазу обратимо деполяризует нейроны на $9,4 \pm 2,2\%$ от контроля, при этом увеличивается частота ИА, снижается амплитуда ПД, возрастает их длительность и иногда может полностью подавляться генерация ПД. На фоне действия севофлурана в концентрации 5 мМ развивается вторая обратимая фаза гиперполяризации нейронов до $18,1 \pm 16,9\%$ от контроля. При отмывании и после (более 5 мин) действия анестетика может возникать выраженная и длительно длящаяся гиперполяризация нейронов.

3. Эффекты модуляции функционального состояния и электрической активности нейронов (гиперполяризация клеток, незначительное снижение амплитуд ионных токов) при и после действия севофлурана могут лежать в основе его пре-, посткондиционирования, цитопротекции.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8.

Вислобоков Анатолий Иванович

доктор биологических наук, заведующий отделом нейрофармакологии.

Тел. 8 (812) 499–71–02.

E-mail: vislobokov@yandex.ru

Полушин Юрий Сергеевич

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, проректор по научной работе, руководитель научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.

E-mail: polushin1@gmail.com

Полушин Алексей Юрьевич

Кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии

Алферова Владислава Владимировна

клинический ординатор кафедры анестезиологии и реанимации.

Литература

1. Вислобоков А. И., Звартау Э. Э., Полушин Ю. С. и др. Изменения внутриклеточных потенциалов и ионных токов нейронов моллюсков при вне- и внутриклеточном действии севофлурана и десфлурана // Вестн. анестезиол. и реаниматол. – 2015. – Т. 12, № 2. – С. 65–75.
2. Вислобоков А. И., Игнатов Ю. Д., Галенко-Ярошевский П. А. и др. Мембранотропное действие фармакологических средств. – СПб. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. – 528 с.
3. Вислобоков А. И., Шабанов П. Д. Клеточные и молекулярные механизмы действия лекарств. – Серия: Цитофармакология. Т. 2. – СПб.: Информ-Навигатор, 2014. – 624 с.
4. Галагудза М. М. Пре- и посткондиционирование как способ защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения (экспериментальное исследование): Дис... д-ра мед. наук: 14.00.16. – СПб., 2007. – 250 с.
5. Лихванцев В. В., Гребенчиков О. А., Шмелёва Е. А. и др. Анестетическое прекодиционирование: почему данные, полученные в эксперименте, не всегда подтверждаются в клинике // Вестн. анестезиол. и реаниматол. – 2013. – № 4. – С. 9–15.
6. Лихванцев В. В., Ильин Ю. В., Шмелёва Е. А. и др. Влияние выбора метода анестезии на возникновение и развитие расстройств сознания в послеоперационном периоде у пациентов с цереброваскулярной недостаточностью // Вестн. анестезиол. и реаниматол. – 2014. – № 6. – С. 5–14.
7. Нейропротекция. Модели, механизмы, терапия / Ред.: Бер М., Зыков В., Камчатнов П. – Изд-во: Бином. Лаборатория знаний. – 2011. – 436 с.
8. Толкунов Ю. А., Сибаров Д. А., Фролов Д. С. Активность первичных афферентных нейронов тонкой кишки при действии гистамина модулируется дефенсином HNP-1 // Сенсорн. сист. – 2009. – Т. 23, № 1. – С. 79–86.
9. Hamakawa T., Feng Z. P., Grigoriv N. et al. Sevoflurane induced suppression of inhibitory synaptic transmission between soma-soma paired Lymnaea neurons // J. Neurophysiol. – 1999. – Vol. 82, № 5. – P. 2812–2819.
10. Hemmings H. C. Neuroprotection by Na⁺ channel blockade // J. Neurosurg. Anesthesiol. – 2004. – Vol. 16. – P. 100–101.
11. Hemmings H. C. Sodium channels and the synaptic mechanisms of inhaled anaesthetics // British. J. Anaesthesia. – 2009. – Vol. 103, № 1. – P. 61–69.
12. Hirota K., Fudjimura J., Wakasugi M. et al. Isoflurane and sevoflurane modulate inactivation kinetics of Ca²⁺ currents in single bullfrog atrial myocytes // Anesthesiol. – 1996. – Vol. 84, № 2. – P. 377–383.
13. Hirota K., Roth S. H. The effects of sevoflurane on population spikes in CA1 and dentate gyrus of the rat hippocampus *in vitro* // Anesth. Analg. – 1997. – Vol. 85. – P. 426–430.
14. Hu Z. Y., Liu J. Mechanism of cardiac preconditioning with volatile anaesthetics // Anaesth. Intens. Care. – 2009. – Vol. 37, № 4. – P. 532–538.
15. Kamatchi G. L., Chan C. K., Snutch T. et al. Volatile anesthetic inhibition of neuronal Ca²⁺ channel currents expressed in *Xenopus* oocytes // Brain Res. – 1999. – Vol. 831. – P. 85–96.
16. Landoni G., Biondi-Zoccai G. G. L., Zangrillo A. et al. Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials // J. Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2007. – Vol. 21, № 4. – P. 502–511.
17. Landoni G., Fochi O., Tritapepe L. et al. Cardiac protection by volatile anesthetics // Minerva Anesthesiol. – 2009. – Vol. 75, № 5. – P. 269–273.
18. Matei G., Pavlik R., McCadden T. et al. Sevoflurane improves electrophysiological recovery of rat hippocampal slice CA 1 pyramidal neurons after hypoxia // J. Neurosurg. Anesthesiol. – 2002. – Vol. 14. – P. 293–298.
19. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium // Circulation. – 1986. – Vol. 74. – P. 1124–1136.
20. Namba T., Ishii T. M., Ikeda M. et al. Inhibition of the human intermediate conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel, hIK1, by volatile anesthetics // Eur. J. Pharmacol. – 2000. – Vol. 395, № 2. – P. 95–101.
21. Ouyang W., Herold K. F., Hemmings H. C. Comparative effects of halogenated inhaled anesthetics on voltage-gated Na⁺ channel function // Anesthesiol. – 2009. – Vol. 110, № 3. – P. 582–590.
22. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. – Vienna, Austria. – 2014. URL <http://www.R-project.org/>.
23. Velly L. J., Canas P. T., Guillet B. A. et al. Early anesthetic preconditioning in mixed cortical neuronal-glial cell cultures subjected to oxygen-glucose deprivation: the role of adenosine triphosphate dependent potassium channels and reactive oxygen species in sevoflurane-induced neuroprotection // Anesth. Analg. – 2009. – Vol. 108, № 3. – P. 955–963.
24. Weber N. C., Schlack W. Inhalational anaesthetics and cardioprotection // Handb. Exp. Pharmacol. – 2008. – Vol. 182. – P. 187–207.
25. Weigt H. U., Kwok W. M., Rehmert G. C. et al. Voltage-dependent effects of volatile anesthetics on cardiac sodium current // Anesth. Analg. – 1997. – Vol. 84. – P. 285–293.
26. Wu J., Harata N., Akaike N. Sevoflurane-induced ionic current in acutely dissociated CA1 pyramidal neurons of the rat hippocampus // Brain. Res. – 1994. – Vol. 645. – P. 303–308.
27. Wulf H., Ledowski T., Linstedt U. et al. Neuromuscular blocking effects of rocuronium during desflurane, isoflurane, and sevoflurane anaesthesia // Can. J. Anaesth. – 1998. – Vol. 45. – P. 526–532.
28. Yasui Y., Masaki E., Kato F. Sevoflurane directly excites locus coeruleus neurons of rats // Anesthesiology. – 2007. – Vol. 107, № 6. – P. 992–1002.

References

1. Vislobokov A.I., Zvartau E.E., Polushin Yu.S. et al. Changes in intracellular potentials and ion fluxes of neurons of mollusks by extracellular and intracellular action of sevoflurane and desflurane *Vestnik Anesteziol. i Reanimatol.*, 2015, vol. 12, no. 2, pp. 65–75. (In Russ.)
2. Vislobokov A.I., Ignatov Yu.D., Galenko-Yaroshevsky P.A. et al. *Membranotropnoye deistviye farmakologicheskikh sredstv*. [Membrane-acting action of pharmaceutical substances]. St. Petersburg, Krasnodar, Prosveshcheniye Yug Publ., 2010, 528 p.
3. Vislobokov A.I., Shabanov P.D. *Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy deistviya lekarstv. Seriya: Tsitofarmakologiya*. [Cellular and molecular mechanisms of drug actions. Series: Cytopharmacology]. vol. 2, St. Petersburg, Inform-Navigator Publ., 624 p.
4. Galagudza M.M. *Pre- i postkonditsionirovaniye kak sposob zashchity miokarda ot ishemicheskogo i reperfusionnogo povrezhdeniya (eksperimentalnoye issledovaniye)*. Diss. dokt. med. nauk. [Pre and post conditioning as a way of protection of myocardium from ischemic and reperfusion lesions (experimental research)]. 14.00.16. St. Petersburg, 2007, 250 p.
5. Likhvantsev V.V., Grebenshchikova O.A., Shmeleva E.A. et al. Anesthetic pre-conditioning: why the data received in the experiment are not always confirmed in the clinic. *Vestnik Anesteziol. i Reanimatol.*, 2013, no. 4, pp. 9–15. (In Russ.)
6. Likhvantsev V.V., Ilyin Yu.V., Shmeleva E.A. et al. Impact of anesthesia method on beginning and progression of consciousness disorders in postoperative period in patients with cerebral vascular insufficiency. *Vestnik Anesteziol. i Reanimatol.*, 2014, no. 6, pp. 5–14. (In Russ.)
7. *Neuroprotektsiya. Modeli, mekhanizmy, terapiya*. [Neuroprotection. Models, mechanisms, therapy]. Ed. by Ber M., Zыkov V., Kamchatnov P. Binom, Laboratoriya Znany Publ., 2011, 436 p.
8. Tolkunov Yu.A., Sibarov D.A., Frolov D.S. Action of primary afferent neurons of the small bowel is modulated by HNP-1 defensin by the histamine action. *Sensorn. Sist.*, 2009, vol. 23, no. 1, pp. 79–86. (In Russ.)
9. Hamakawa T., Feng Z.P., Grigoriv N. et al. Sevoflurane induced suppression of inhibitory synaptic transmission between soma-soma paired Lymnaea neurons. *J. Neurophysiol.*, 1999, vol. 82, no. 5, pp. 2812–2819.
10. Hemmings H.C. Neuroprotection by Na⁺ channel blockade. *J. Neurosurg. Anesthesiol.*, 2004, vol. 16, pp. 100–101.
11. Hemmings H.C. Sodium channels and the synaptic mechanisms of inhaled anaesthetics. *British. J. Anaesthesia*, 2009, vol. 103, no. 1, pp. 61–69.
12. Hirota K., Fudjimura J., Wakasugi M. et al. Isoflurane and sevoflurane modulate inactivation kinetics of Ca²⁺ currents in single bullfrog atrial myocytes. *Anesthesiol.*, 1996, vol. 84, no. 2, pp. 377–383.

13. Hirota K., Roth S.H. The effects of sevoflurane on population spikes in CA1 and dentate gyrus of the rat hippocampus *in vitro*. *Anesth. Analg.*, 1997, vol. 85, pp. 426-430.
14. Hu Z.Y., Liu J. Mechanism of cardiac preconditioning with volatile anaesthetics. *Anaesth. Intensive Care*, 2009, vol. 37, no. 4, pp. 532-538.
15. Kamatchi G.L., Chan C.K., Snutch T. et al. Volatile anesthetic inhibition of neuronal Ca^{2+} channel currents expressed in *Xenopus* oocytes. *Brain Res.*, 1999, vol. 831, pp. 85-96.
16. Landoni G., Biondi-Zoccai G.G.L., Zangrillo A. et al. Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J. Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 2007, vol. 21, no. 4, pp. 502-511.
17. Landoni G., Fochi O., Tritapepe L. et al. Cardiac protection by volatile anesthetics. *Minerva Anesthesiol.*, 2009, vol. 75, no. 5, pp. 269-273.
18. Matei G., Pavlik R., McCadden T. et al. Sevoflurane improves electrophysiological recovery of rat hippocampal slice CA 1 pyramidal neurons after hypoxia. *J. Neurosurg. Anesthesiol.*, 2002, vol. 14, pp. 293-298.
19. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986, vol. 74, pp. 1124-1136.
20. Namba T., Ishii T.M., Ikeda M. et al. Inhibition of the human intermediate conductance $Ca(2^{+})$ -activated $K(^{+})$ channel, hK1, by volatile anesthetics. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, vol. 395, no. 2, pp. 95-101.
21. Ouyang W., Herold K.F., Hemmings H.C. Comparative effects of halogenated inhaled anesthetics on voltage-gated Na^{+} channel function. *Anesthesiol.*, 2009, vol. 110, no. 3, pp. 582-590.
22. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2014, URL <http://www.R-project.org>.
23. Velly L.J., Canas P.T., Guillet B.A. et al. Early anesthetic preconditioning in mixed cortical neuronal-glial cell cultures subjected to oxygen-glucose deprivation: the role of adenosine triphosphate dependent potassium channels and reactive oxygen species in sevoflurane-induced neuroprotection. *Anesth. Analg.*, 2009, vol. 108, no. 3, pp. 955-963.
24. Weber N.C., Schlack W. Inhalational anaesthetics and cardioprotection. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2008, vol. 182, pp. 187-207.
25. Weigt H.U., Kwok W.M., Rehmer G.C. et al. Voltage-dependent effects of volatile anesthetics on cardiac sodium current. *Anesth. Analg.*, 1997, vol. 84, pp. 285-293.
26. Wu J., Harata N., Akaie N. Sevoflurane-induced ionic current in acutely dissociated CA1 pyramidal neurons of the rat hippocampus. *Brain. Res.*, 1994, vol. 645, pp. 303-308.
27. Wulf H., Ledowski T., Linstedt U. et al. Neuromuscular blocking effects of rocuronium during desflurane, isoflurane, and sevoflurane anaesthesia. *Can. J. Anaesth.*, 1998, vol. 45, pp. 526-532.
28. Yasui Y., Masaki E., Kato F. Sevoflurane directly excites locus coeruleus neurons of rats. *Anesthesiology*, 2007, vol. 107, no. 6, pp. 992-1002.

ОЦЕНКА РИСКА ОСТАТОЧНОЙ МИОРЕЛАКСАЦИИ ПРИ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ

Д. А. Куренков¹, Э. М. Николаенко¹, С. Ю. Чижевская¹, Е. А. Евдокимов²

THE RISK ASSESSMENT OF THE RESIDUAL NEUROMUSCULAR BLOCKADE UNDER LAPAROSCOPIC OPERATIVE INTERVENTIONS

D. A. Kurenkov¹, E. M. Nikolaenko¹, S. Yu. Chizhevskaya¹, E. A. Evdokimov²

¹Центр интенсивной терапии и анестезиологии НУЗ «НКЦ ОАО "РЖД"», г. Москва

²Российская медицинская академия последиplomного образования, г. Москва

¹Center of Intensive Therapy and Anaesthesiology, Russian Railways, Moscow, RF

²Russian Medical Academy of Postgraduate Training, Moscow, RF

Выявлена степень риска остаточной кураризации на момент экстубации трахеи при лапароскопических вмешательствах. С помощью количественного нейромышечного мониторинга и «слепого» контроля показано, при какой степени восстановления нервно-мышечной проводимости и через какое время после окончания операции анестезиологи-реаниматологи рутинно производят экстубацию трахеи при лапароскопической холецистэктомии и аппендэктомии.

Ключевые слова: миорелаксация, остаточная кураризация, мониторинг нейромышечной проводимости.

The risk degree of the residual curarization was identified for the tracheal extubation under laparoscopic intervention. It is shown by the quantitative neuromuscular monitoring and "total-blind" control under which recovery rate of the neuromuscular conduction and how soon on the operation completion the intensivists perform the tracheal extubation on a routine basis.

Key words: neuromuscular blockade, residual curarization, monitoring of neuromuscular conduction.