

УДК: 616.831.313 + 616.831.31] – 018.82 – 073.524 – 085.216.2
© Губіна-Вакулік Г.І., Фесенко У.А., М'ясоєдов В.В., 2009

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ДІЇ КЕТАМІНУ ТА НЕЙРОПРОТЕКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПІРАЦЕТАМУ ТА СУЛЬФАТУ МАГНІЮ НА НЕЙРОНИ ГІПОКАМПА У ЩУРІВ

Губіна-Вакулік Г.І., Фесенко У.А., М'ясоєдов В.В.

Харківський національний медичний університет

Губіна-Вакулік Г.І., Фесенко У.А., М'ясоєдов В.В. Морфологічна оцінка дії кетаміну та нейропротективних властивостей пірацетаму та сульфату магнію на нейрони гіпокампа у щурів // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 29-34.

Досліджений вплив кетаміну та нейропротекторні властивості пірацетаму та сульфату магнію на нейрони гіпокампа у щурів. Кетамін у дозі 0,1 мг/г підвищує функціональну навантаження на нейрони гіпокампа, що характеризується збільшенням розмірів та плоідності ядер, зниженням їх оптичної щільності, незначним збільшенням вмісту нуклеїнових кислот. Пірацетам в дозі 2 мг/г знижує морфологічну активність нейронів ядер гіпокампа, не впливаючи на їх кількість, про що свідчать збільшення оптичної щільності при незначному скороченні розмірів, та збільшення вмісту нуклеїнових кислот, без змін плоідності ядер. Сульфат магнію у дозі 2,5 мг/г викликає апоптотичну загибель деякої частини нейронів гіпокампа, скоріш за все поліплоїдних, про що свідчать скорочення кількості нейронів, тенденція до зниження вмісту нуклеїнових кислот, розмірів ядер, оптичної щільності та плоідності. Додавання пірацетаму до кетаміну підвищує функціональні можливості нейронів при деякому зниженні навантаження на окрему клітину. При додаванні сульфату магнію до кетаміну спостерігається апоптоз нейронів гіпокампа.

Ключові слова: кетамін, пірацетам, сульфат магнію, нейрон, гіпокамп, щур.

Губина-Вакулік Г.И., Фесенко У.А., Мясоєдов В.В. Морфологическая оценка действия кетамин и нейропротекторных свойств пирацетам и сульфата магния на нейроны гиппокампа у крыс // Украинский морфологический альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 29-34.

Исследовано влияние кетамин и нейропротекторные свойства пирацетам и сульфата магния на нейроны гиппокампа у крыс. Кетамин в дозе 0,1 мг/г повышает функциональную нагрузку на нейроны гиппокампа, что характеризуется увеличением размеров и плоидности ядер, снижением их оптической плотности, незначительным повышением содержания нуклеиновых кислот. Пирацетам в дозе 2 мг/г снижает морфологическую активность нейронов ядер гиппокампа, не влияя на их количество, что характеризуется увеличением оптической плотности при незначительном уменьшении размеров, увеличением содержания нуклеиновых кислот, без изменения плоидности ядер. Сульфат магния в дозе 2,5 мг/г вызывает апоптотическую гибель части нейронов гиппокампа, скорее всего полиплоидных, о чем свидетельствуют уменьшение количества нейронов, тенденция к снижению содержания нуклеиновых кислот, размеров, оптической плотности ядер. Добавление пирацетам к кетамину повышает функциональные возможности нейронов при некотором снижении нагрузки на отдельную клетку. При добавлении сульфата магния к кетамину наблюдается апоптоз нейронов гиппокампа.

Ключевые слова: кетамин, пирацетам, сульфат магния, нейрон, гиппокамп, крыса.

Gubina-Vaculik G.I., Fesenko U.A., Myasoedov V.V. The morphologic evaluation of influence of ketamine and neuroprotective properties of piracetam and magnesium sulfate on hippocampal neurons in rats // Украинский морфологический альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 29-34.

The influence of ketamine and neuroprotective properties of piracetam and magnesium sulfate on hippocampal neurons are investigated in rats. Ketamine in dose 0,1 mg/g increases nucleic diameter and ploidy, decreases optic density and increases the concentration of nucleic acids insignificantly. These changes are characteristic with the increased functional load on hippocampal neurons. Piracetam in dose 2 mg/g increases optic density and the concentration of nucleic acids significantly, decreases nucleic diameter insignificantly, without the influence on ploidy. The effect of piracetam is characteristic with the decreased morphofunctional activity of hippocampal neurons. Magnesium sulfate in dose 2,5 mg/g cause apoptotic neurodegeneration in part of hippocampal neurons, which was seen as decreased quantity, concentration of nucleic acids, diameter, optic density and ploidy of nuclei. Piracetam in combination with ketamine increases the functional ability of neurons with moderate decrease of load on them. The combination of magnesium sulfate with ketamine cause apoptosis of hippocampal neurons.

Key words: ketamine, piracetam, magnesium sulfate, neuron, hippocamp, rat.

Механізм дії загальних анестетиків, які застосовують для наркозу, залишається не до кінця вивченим. Дослідження останніх років частково відкрили завісу цієї таємниці, але запитань виникло ще більше. Ліпідна теорія, яка домінувала раніше, відходить у минуле. На сьогодні більшість вчених схильються до рецепторної, медіаторної теорії, згідно якої загальні анестетики діють на рецептори нейрональної мембрани та впливають на нейромедіаторний обмін [1]. Негативний вплив загальних анестетиків особливо шкідливий для дитячого мозку, який інтенсивно розвивається. Багатьма дослідниками в експериментах доведено, що вплив інгаляційних та неінгаляційних анестетиків,

а також їх комбінацій на головний мозок на стадії синаптогенезу спричиняє нейродегенерацію та апоптоз. У подальшому ці зміни порушують здатність до засвоєння навичок, когнітивні функції. Більшість авторів вважають, що токсична дія загальних анестетиків на центральну нервову систему виявляється активацією апоптозу – запрограмованої загибелі нейронів [2,3]. Морфологічні зміни в нейронах під впливом анестетиків включають зморщування нейронів, конденсацію хроматину, фрагментацію ДНК, пухирчастість мембран та утворення апоптотичних тілець [4].

Кетамін, який найчастіше використовують в дитячій анестезіології в нашій країні, є неконку-

рентним антагоністом NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторів. Він має багатогранну дію на центральну нервову систему, від блокади полісинаптичних рефлексів спинного мозку до пригнічення ефектів збуджуючих нейротрансмітерів в окремих ділянках головного мозку. Кетамін функціонально роз'єднує, дисоціює таламус, який переключає сенсорні імпульси з ретикулярної активуючої системи на кору великих півкуль і лімбічну кору, яка відповідає за усвідомлення відчуттів. [5].

NMDA-рецептори відіграють незамінну роль у збуджувальній синаптичній передачі, синаптичній пластичності, на яких базуються процеси навчання та пам'яті. Вони також беруть участь у прета постнатальному розвитку нервової системи, диференціації нервових клітин, аксональному рості та дегенерації непотрібних нейронів. Тому їх блокада в період синаптогенезу призводить до підвищеної загибелі нейронів за механізмом апоптозу [6-8]. Кетамін має також нейропротективні властивості при ішемії головного мозку, які пов'язують з блокадою токсичної дії ендогенних збуджуючих амінокислот (глутамату та аспартату) [9-11]. В літературі багато даних про нейротоксичну дію кетаміну на головний мозок, яку описують у вигляді вакуолізації цитоплазми, апоптотичної нейродегенерації цереброкортикальних нейронів [12]. Дозалежність нейротоксичної дії кетаміну досі дискутується серед дослідників. Деякі з них підтверджують відсутність такої дії при одноразовому введенні анестетичної дози [13-15]. Але інші дослідники доводять шкідливість анестетичних і навіть субанестетичних доз цього препарату [16]. Окрім нейронального апоптозу, анестетики можуть впливати на дендритну структуру нейронів, що призводить до стійкої дисфункції ЦНС [17]. Загальні анестетики називають одними з головних чинників післяопераційних когнітивних дисфункцій [18].

Методи профілактики психоушкоджуючої дії наркозу досі не розроблені. Найчастіше з цією метою використовують препарати групи ноотропів, а саме пірацетам, який покращує синтез нуклеїнових кислот у нейронах, медіаторний обмін [19-23]. Деякі автори доводять нейропротективні властивості сульфату магнію при гіпоксично-ішемічних ушкодженнях головного мозку та пов'язують це з впливом магнію на різні стадії апоптозу [24-29].

Метою нашого дослідження було вивчення морфологічних змін у нейронах гіпокампа щурів під дією кетаміну та нейропротективних властивостей пірацетаму і сульфату магнію.

Матеріали та методи. Дослідження є складовою частиною науково-дослідної роботи «Періопераційна церебропротекція в дитячій анестезіології», яка виконується у рамках тематики «Антистресорна терапія при ушкодженнях головного мозку різноманітної етіології», реєстраційний №0104U002242, на кафедрі медицини невідкладних станів, анестезіології та інтенсивної терапії ХНМУ.

Експериментальні дослідження проведені на 40 двохмісячних щурах лінії Wistar обох статей. Середня маса тіла щурів становила $63,6 \pm 16,9$ г. Тварин утримували в умовах виваріо при кімнатній температурі з 12-годинним циклом світла-темряви, з вільним доступом до води та їжі, на стандартній дієті згідно норм утримання лабораторних тварин. Експериментальні дослідження виконані згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затвердженими наказом МОЗ України.

Були сформовані 2 експериментальні серії: К (25 щурів, яким вводили кетамін) та Ф (15 щурів, яким вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину). В кожній серії було по 3 групи (основна та з додаванням пірацетаму або сульфату магнію). Таким чином, в експерименті порівнювали стан нейронів гіпокампа в 6 групах: К (n=9), КП (n=8), КМ (n=8), Ф (n=5), ФП (n=5), ФМ (n=5). Дози препаратів: кетамін 0,1 мг/г, пірацетам 2 мг/г, сульфат магнію 2,5 мг/г. Препарати введені інтраперитонеально. Значної різниці між групами за середньою масою тіла та розподілом за статтю тварин не було.

Через годину після введення препаратів тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. Головний мозок швидко вилучали з черепа та фіксували в 10% формаліні. Після фіксації мозок промивали, обробляли спиртом для зневоднення, потім заливали у парафін. З препарату готували серії сагітальних зрізів товщиною 7-8 мкм, які фарбували 1% метиленовим синім та галоціаніном за методикою Ейнарсону, для виявлення нуклеїнових кислот. Зрізи мозку досліджували при 100 та 400-кратному збільшенні світлового мікроскопа «AX-IOSTAR Plus» (Zeiss, ФРН) з відеокамерою «Progres C10pens». Фотографували область зубчатої фасції гіпокампа. За методикою «ВідеоТест» (СПтб, РФ) визначали кількість нейронів в 1000 мкм², площу перерізу ядер, оптичну щільність ядер клітин при фарбуванні галоціаніном, вміст нуклеїнових кислот та плоідність ядер [30].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакету програм «Ексел», за допомогою неспарованого двобічного критерію Стьюдента. За рівень статистичної значущості приймали значення $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У щурів, які отримали ін'єкції фізіологічного розчину, досліджувана ділянка гіпокампа гістологічно має вигляд густо, компактно розташованих нейронів овальної та округлої форми, з чіткими межами. На препаратах, пофарбованих галоціаніном, хроматин ядер нейронів виглядає дрібнодисперсним, з чіткими дрібними глибокими; ядришко важко розглядається. Багато нейронів мають темне компакте ядро, що свідчить про їх стан спокою.

При введенні тваринам кетаміну (рис. 1) спостерігається різке збільшення кількості нейронів великого розміру зі світлим ядром, інколи «порожнім», вірогідно, з явищами хроматолізу. Мають місце також нейрони з маленькими, зморщеними ядрами (каріопікноз).

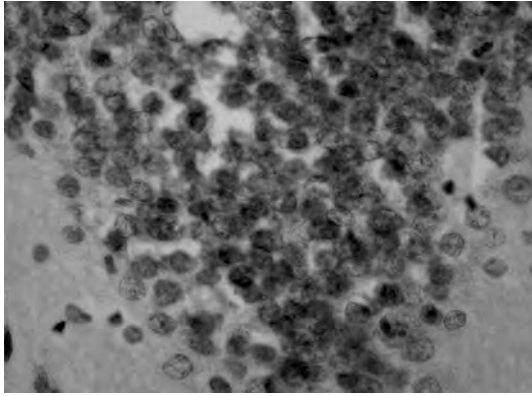


Рис. 1. Зріз гіпокампа у групі К. Фарбування галоціаніном за методикою Ейнарсону, збільшення $\times 400$. Видна велика кількість нейронів з великим світлим ядром, деякі ядра «порожні».

У групі ФП нейрони розташовані компактно, мають невеликі розміри, овальну форму; ядра у більшості - середнього ступеню гетерохромності, тобто візуально різниці від групи Ф не відмічається (рис. 2). У групі КП у деяких тварин у даному полі гіпокампа виявляються ділянки «спустошення»; ядра овальної форми середнього ступеню гетерохромності; звертає увагу зменшення кількості нейроцитів з хроматолізом в ядрах порівняно з групою К.

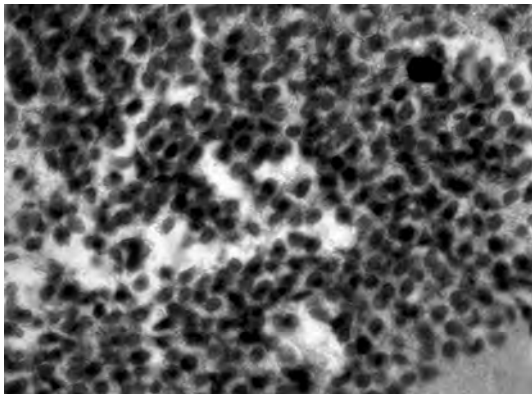


Рис. 2. Зріз гіпокампа у групі ФП. Фарбування галоціаніном за методикою Ейнарсону, збільшення $\times 400$. Нейрони невеликого розміру, компактно розташовані, ядра темні.

При введенні сульфату магнію в серії порівняння (група ФМ) також спостерігаються ділянки «пустоти»; нейроцити, які збереглися, овально-округлої форми, ядра у більшості еухромні з глибокими хроматіну (рис. 3). Зустрічаються нейроцити з пікнотичними (маленькими темними) ядрами, що свідчить про їх преапоптотичний стан. Якщо сульфат магнію отримували тварини, яким введений кетамін, то гістологічно виявляється зменшення кількості нейроцитів в гіпокампі. Нейрони мають ядра з різним рівнем морфофункціонального стану: дуже великі, середні, маленькі, гіперхромні, еухромні.

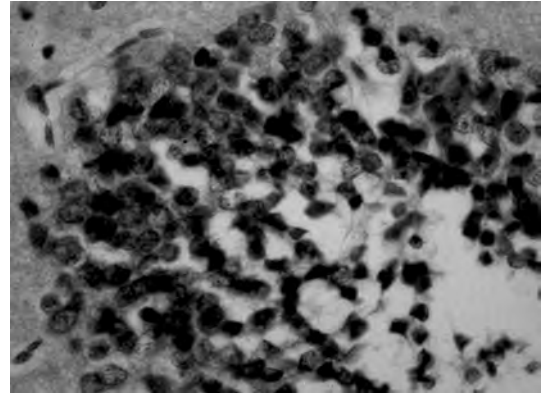


Рис. 3. Зріз гіпокампа у групі ФМ. Фарбування галоціаніном за методикою Ейнарсону, збільшення $\times 400$. Поява розрідженості у досліджуваній ділянці гіпокампа.

Для уточнення та пояснення виявлених гістологічних змін в гіпокампі проведені морфометричні дослідження.

Уведення кетаміну порівняно з введенням фізіологічного розчину, а також введення пірацетаму в обох серіях (групи ФП і КП) не змінили кількість нейроцитів в ділянці препарату товщиною в 1000 мкм^2 . Сульфат магнію значно знизив кількість нейронів в гіпокампі, приблизно на 22% ($p < 0,05$). При комбінації кетаміну з сульфатом магнію кількість нейронів знизилось на 10% (рис. 4).

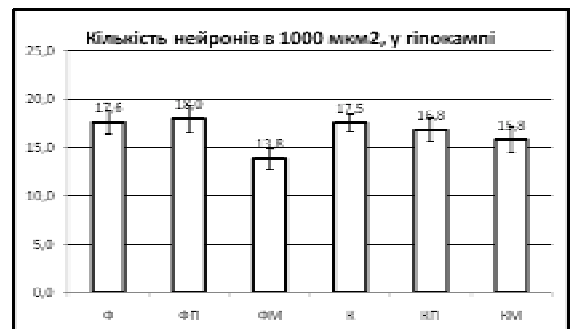


Рис. 4. Кількість нейронів в 1000 мкм^2 у зрізах гіпокампа ($M \pm m$).

Площа перерізу ядер нейронів гіпокампа (рис. 5) в групі Ф у середньому становила $24,66 \text{ мкм}^2$. Ані пірацетам, ані сульфат магнію істотно не впливали на цей показник у неанестезованих щурів, відповідні значення – $21,02 \text{ мкм}^2$ ($p = 0,07$) та $22,02 \text{ мкм}^2$ ($p = 0,34$). Однак можна відмітити тенденцію до зменшення площі ядер. Кетамін статистично значно підвищив площу ядер нейронів гіпокампа до $35,81 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,0001$), що вважається ознакою більш активного морфофункціонального стану ядра. Ще більше підвищення цього показника (до $40,76 \text{ мкм}^2$) викликало одночасне введення кетаміну та пірацетаму ($p < 0,00001$ між групами КП та ФП, $p = 0,02$ між групами К та КП). Одночасне введення сульфату магнію з кетаміном зменшило площу ядер нейронів гіпокампа до $28,39 \text{ мкм}^2$, у порівнянні з групою К, тобто є показник зниження морфофункціональної активності нейроцитів в цій групі.



Рис. 5. Площа перерізу ядер нейронів гіпокампа в μm^2 ($M \pm m$).

Оптична щільність ядер нейронів гіпокампа (рис. 6) на мікропрепаратах, пофарбованих галоціанином, у шурів, яким вводився тільки фізіологічний розчин, становив 0,22 у.о. Пірацетам у 1,5 рази підвищив цей денситометричний показник ($p < 0,0001$), а сульфат магнію знизив його на 0,03 у.о. ($p = 0,02$). Кетамін також знизив оптичну щільність ядер нейронів гіпокампа, до 0,18 у.о. ($p = 0,03$). При поєднаному застосуванні кетаміну та пірацетаму оптична щільність становила 0,19 у.о., що істотно не відрізнялося від групи К ($p = 0,46$), але була значно нижчою, ніж у групі ФП ($p < 0,0001$). При комбінації кетаміну з сульфатом магнію оптична щільність становила 0,22 у.о., цей показник був вищим, ніж при введенні кетаміну окремо ($p = 0,01$). Оскільки підвищення оптичної щільності ядра при фарбуванні мікропрепарату на нуклеїнові кислоти означає зміщення стану хроматину у бік гетерохромності, а зниження – у бік еухромності хроматину, можна припустити, що кетамін викликає деспіралізацію хромосом, тобто активацію ядер (у середньому), а пірацетам у серії порівняння (група ФП), навпаки, різко посилює спіралізацію хромосом, тобто знижує активність ядер [32].



Рис. 6. Оптична щільність ядер нейронів гіпокампа в у.о. ($M \pm m$).

Відносно загального вмісту нуклеїнових кислот (рис. 7): введення пірацетаму в серії порівняння викликало значне підвищення цього показника, а введення сульфату магнію трохи знизило його. Кетамін, уведений окремо, підвищив цей показник. Комбінація кетаміну з пірацетамом викликало найбільше зростання вмісту нуклеїнових кислот у ядрах нейронів гіпокампа. При одночасному введенні кетаміну та сульфату магнію вміст нуклеїнових кислот істотно не відрізнявся від групи, де вводився кетамін окремо, але тенденція до зниження мала місце. Тобто, при всіх варіантах присутність

кетаміну зумовлює або достовірне, або тенденційне підвищення сумарного вмісту нуклеїнових кислот в ядрах нейронів гіпокампа.

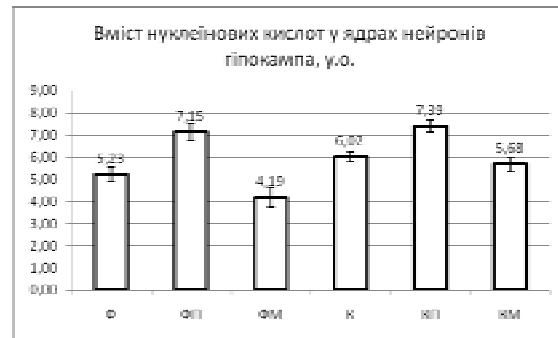


Рис. 7. Вміст нуклеїнових кислот у ядрах гіпокампа, у.о. ($M \pm m$).

Різний вміст нуклеїнових кислот в ядрах клітин зумовлений різною плоідністю ядер.

Як видно з табл. 1, середня плоідність ядер у групі Ф та ФП статистично не відрізнялася ($p = 0,5$), тоді як у групі М цей показник знизився істотно ($p = 0,03$). Кетамін збільшив середню плоідність ядер майже вавічі ($p = 0,0003$). Пірацетам не впливав на такий ефект кетаміну на плоідність ядер, а сульфат магнію нейтралізував його. Визначення питомої ваги нейронів різної плоідності виявило цікаву картину. У шурів групи Ф переважають нейрони, плоідність ядер яких становить 4-6с (75%), у 15% нейронів ядра мають - 3с, 5% - 2с. Введення пірацетаму на фоні фізіологічного розчину істотно не впливає на плоідність ядер, окрім того, що зникають диплоїдні нейрони. Введення сульфату магнію на фоні фізіологічного розчину різко змінює картину плоідності нейронів гіпокампа: з'являються моноплоїдні (10%), які вважаються гіподиплоїдними, гинущими з проявами хроматолізу. Кетамін різко підвищує кількість гіперплоїдних нейронів, аж до появи нейроцитів з ядрами 20с. Додавання пірацетаму також супроводжується гіперплоїдністю. Сульфат магнію різко зменшує кількість нейроцитів великої плоідності у порівнянні з групою К.

Аналізуючи отримані дані можна зробити наступні узагальнення про вплив досліджуваних ліків та їх комбінацій на нейрони гіпокампа:

Кетамін у дозі 0,1 мг/г у шурів викликає збільшення розмірів ядер нейронів гіпокампа зі зменшенням їх оптичної щільності при фарбуванні галоціанином та з різким підвищенням плоідності, без змін кількості нейронів. Тобто спостерігається значна стимуляція цих нейронів, яка реалізується не тільки включенням в роботу генів наявних хромосом ядра, а також їх подвоєнням, поліплоїдизацією.

Ноотроп пірацетам та нейропротектор сульфат магнію у серії порівняння виявили різний вплив на дію кетаміну на нейрони гіпокампа. При введенні пірацетаму в дозі 2 мг/г на фоні фізіологічного розчину у гіпокампі шурів спостерігається тенденція до зменшення розмірів ядер нейронів з підвищенням їх оптичної щіль-

ності при фарбуванні галоціаніном. Кількість та плоідність цих нейроцитів під впливом пірацетаму не змінилися. Таким чином, можна говорити про зниження морфофункціональної активності нейронів ядер гіпокампа під дією пірацетаму. Уведення сульфату магнію в дозі 2,5 мг/г на фоні фізіологічного розчину шурам викликає зменшення кількості, розмірів, оптичної щіль-

ності та плоідності ядер нейронів гіпокампа з появою гіподиплоїдних ядер. Тобто, можна припустити, що сульфат магнію у здорових шурів викликає апоптоз деякої частини нейроцитів гіпокампа, скоріш за все поліплоїдних. Це підтверджується виявленням вірогідного зменшення кількості нейроцитів в фіксованій ділянці гіпокампа.

Таблиця 1. Питома вага (%) нейронів різної плоідності в гіпокампі та середня плоідність ядер.

Плоідність нейронів гіпокампа	Ф	ФП	ФМ	К	КП	КМ
1с	-	-	10	-	-	-
2с	5	-	25	-	-	12
3с	15	15	15	1	2	20
4с	25	30	10	18	2	27
5с	25	20	30	13	7	17
6с	25	25	10	17	25	15
7с	5	10	-	5	8	3
8с	-	-	-	7	15	3
9с	-	-	-	5	15	3
10с	-	-	-	2	10	-
11-15с	-	-	-	15	15	-
16-20с	-	-	-	17	1	-
M ± m	4,60 ± 0,28	4,86 ± 0,26	3,59 ± 0,36	8,80 ± 0,62	8,34 ± 0,38	4,36 ± 0,26

Використання нейропротекторів в основній серії показало неоднозначний результат. При додаванні пірацетаму до кетаміну спостерігається збільшення площі, незначне підвищення оптичної щільності та плоідизації у ядрах нейроцитів гіпокампа. Це можна трактувати як подальше підвищення можливостей нейроцитів при деякому зниженні завантаження на окрему клітину. Додавання сульфату магнію до кетаміну зумовлює зменшення кількості нейроцитів, розмірів ядра, збільшення оптичної щільності ядер нейронів гіпокампа на фоні зниження ступеню їх плоідизації. Це можна трактувати як негативний вплив сульфату магнію, тобто як пряму токсичну дію з загбеллю частини нейроцитів.

Різниця між самцями та самками за жодним з досліджуваних морфометричних та денситометричних показників нейронів ми не спостерігали.

Висновки:

1. Кетамін у дозі 0,1 мг/г не зменшуючи кількість нейронів гіпокампа, викликає значну стимуляцію їх, включаючи поліплоїдизацію.

2. Пірацетам при окремому введенні у дозі 2 мг/г знижує морфофункціональну активність нейронів ядер гіпокампа, не впливаючи на їх кількість. Додавання пірацетаму до кетаміну підвищує функціональні можливості нейроцитів при деякому зниженні завантаження на окрему клітину, зменшує кількість нейронів з хроматолізом в ядрах.

3. Сульфат магнію при окремому введенні у дозі 2,5 мг/г викликає апоптогенну загбелю деякої частини нейроцитів гіпокампа, візуально в цих препаратах спостерігаються ділянки «пустоти». При додаванні сульфату магнію до кетаміну також спостерігається візуальне зменшення кількості нейроцитів в гіпокампі, скоріш за все поліплоїдних.

Таким чином, пірацетам можна рекомендувати для протекції нейронів гіпокампа від токсичної дії

кетаміну. Додавання сульфату магнію до кетаміну не спричиняло подібної протекції. Можливо, доза сульфату магнію 2,5 мг/г є токсичною для нейронів гіпокампа саме у шурів.

У подальшій перспективі становить інтерес вивчення впливу інших анестетиків на головний мозок.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Franks N.P. Molecular targets underlying general anaesthesia // *British Journal of Pharmacology*. – 2006. – Vol. 147. – p. S72-S81.
2. Scallet A.C., Schmued L.C., Slikker W.Jr, Grunberg N., Faustino P.J., Davis H., Lester D., Pine P.S., Sistare F., Hanig J.P. Developmental neurotoxicity of ketamine: morphometric confirmation, exposure parameters, and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons // *Toxicological sciences*. – 2004. – Vol.81, №2. – P. 364-370.
3. Fredriksson A., Ponten E., Gordh T., Eriksson P. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-D-aspartate and gamma-Aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits // *Anesthesiology*. – 2007. – Vol. 107, №3. – P. 427-436.
4. Choi S.J., Kim M.H., Lim S.W., Gwak M.S. Effect of ketamine on apoptosis by energy deprivation in astrogloma cells using flow cytometry system // *J. Corean Med.Sci*. – 2005. – Vol. 20, №1. – P. 113-120.
5. Морган Д.Э., Михаил М.С. Клиническая анестезиология. Книга 1-я. (Пер. с англ.) // Москва-Санкт-Петербург. – “Бином – Невский диалект”. 2001. – 396 с.
6. Haberny, K. A., Paule, M. G., Scallet, A. C., Sistare, F. D., Lester, D. S., Hanig, J. P., Slikker, W. Ontogeny of the N-methyl-D-aspartate (NMDA)

- receptor system and susceptibility to neurotoxicity // *Toxicol. Sci.* – 2002. – Vol. 68. – P. 9–17.
7. Olney, J. W. New insights and new issues in developmental neurotoxicology // *Neurotoxicology*. – 2002. – Vol. 23. – P. 659–668.
8. Olney J. W., Wozniak D. F., Jevtovic-Todorovic V., Farber V., Bittigau P., Ikonomidou C. Drug-induced apoptotic neurodegeneration in the developing brain // *Brain Pathol.* – 2002. – Vol. 12. – P. 488–498.
9. Albers G.W., Goldberg M.P., Choi D.W. N-methyl-D-aspartate antagonists: ready for clinical trial in brain ischemia? // *Ann Neurol.* – 1989. – Vol. 25. – P. 398–403.
10. Bullock R. Strategies for neuroprotection with glutamate antagonists. Extrapolating from evidence taken from the first stroke and head injury studies // *Ann NY Acad Sci.* – 1995. – Vol. 765. – P. 272–278.
11. Himmelseher S., Durieux M.E. Revising a dogma: ketamine for patients with neurological injury? // *Anesth Analg.* – 2005. – Vol. 101. – P. 524–534.
12. Ikonomidou C., Bosch F., Miksa M., Bittigau P., Vockler J., Dikranian K., Tenkova T.I., Stefovskaya V., Olney J.W. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain // *Science*. – 1999. – Vol. 283. – P. 70–74.
13. Slikker W.J., Zou X.J., Hotchkiss C.E., Divine R.L., Sadvova N., Twaddle N.C., Doerge D.R., Scallet A.C., Patterson T.A., Hanig J.P., Paule M.G., Wang C. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey // *Toxicological Sciences*. – 2007. – Vol. 98, №1. – P. 145–158.
14. Olney J.W., Labruyere J., Price M.T. Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs // *Science*. – 1989. – Vol. 244. – P. 1360–1362.
15. Hayashi H., Dikkes P., Soriano S.G. Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain // *Paediatr Anaesth.* – 2002. – Vol. 12. – P. 770–774.
16. Young C., Jevtovic-Todorovic V., Qin Y.Q., Tenkova T., Wang H., Labruyere J., Olney J.W. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain // *Br J Pharmacol.* – 2005. – Vol. 146, №2. – P. 189–197.
17. Gascon E., Klausner P., Kiss J.Z., Vutskits L. Potentially toxic effects of anaesthetics on the developing central nervous system // *European Journal of Anaesthesiology*. – 2007. – Vol. 24. – P. 213–224.
18. Шнайдер Н.А. Новый взгляд на проблему послеоперационной когнитивной дисфункции // *Острые и неотложные состояния в практике врача*. – 2008. – №5–6. – С. 64–68.
19. Zhang L.H., Zhang S.S. Relationship between facilitatory effect of piracetam on memory and glutamate receptors // *Zhongguo Yao Li Xue Bao*. – 1991. – Vol. 12, №2. – P.145–147.
20. Sprints A.M. Mechanisms of memory disturbance during stages of memory acquisition and fixation // *Neurosci Behav Physiol.* – 1989. – Vol. 19, №5. – P. 387–392.
21. Мелконян Д.А., Меццьяков А.В. Возможность прогнозирования и профилактики психотических нарушений при общей анестезии кетаминном // *Анестезиология и реаниматология*. – 1989. – №3. – С. 15–18.
22. Ivanova-Stoilova T., Tepavicharova P. Short-acting anesthesia in cosmetic surgery of the breasts // *Khirurgia (Sofia)*. – 1989. – Vol. 42, №4. – P. 50–53.
23. Saba G., Marchi A., Passino N., Martino M.R. Piracetam treatment of pseudohallucinatory phenomena induced by ketamine // *Minerva Anestesiol.* – 1983. – Vol. 49, №4. – P. 215–218.
24. Tang Y.N., Zhao F.L., Ye H.M. Expression of caspase-3 mRNA in the hippocampus of seven-day-old hypoxic-ischemic rats and the mechanism of neural protection with magnesium sulfate // *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. – 2003. – Vol. 41, №3. – P. 212–214.
25. Zhou H., Ma Y., Zhou Y., Liu Z., Wang K., Chen G. Effects of magnesium sulfate on neuron apoptosis and expression of caspase-3, bax and bcl-2 after cerebral ischemia-reperfusion injury // *Chin Med J.* – 2003. – Vol. 116, №10. – P. 1532–1534.
26. Turkyilmaz C., Turkyilmaz Z., Atalay Y., Soylemezoglu F., Celasun B. Magnesium pretreatment reduces neuronal apoptosis in newborn rats in hypoxia-ischemia // *Brain Res.* – 2002. – Vol. 15. – P. 133–137.
27. Sameshima H., Ikenoue T. Effect of long-term, postasphyxial administration of magnesium sulfate on immunostaining of microtubule-associated protein-2 and activated caspase-3 in 7-day-old rat brain // *J. Soc Gynecol Investig.* – 2002. – Vol. 9, №4. – P. 203–209.
28. Ravishankar S., Ashraf Q.M., Fritz K., Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Expression of Bax and Bcl-2 proteins during hypoxia in cerebral cortical neuronal nuclei of newborn piglets: effect of administration of magnesium sulfate // *Brain Res.* – 2001. – Vol. 18. – P. 23–29.
29. Maulik D., Qayyum I., Powell S.R., Karantza M., Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Post-hypoxic magnesium decreases nuclear oxidative damage in the fetal guinea pig brain // *Brain Res.* – 2001. – Vol. 26. – P. 130–136.
30. Автандилов Г.Г., Саниев К.Б. Пloidометрия в повышении качества патогистологической диагностики // *Архив патологии*. – 2002. – т. 64, №3. – С. 31–33.
31. Хэм А., Кормак Д. Гистология. Том 1. Пер. с англ. под ред. Калецкой М.А., Ченцова Ю.С. // Москва. – «Мир». – 1982. – 272 с.

Надійшла 25.09.2009 р.
Рецензент: проф. А.Д.Савенко