

Czy rzeczywiście znany jest efekt farmakodynamiczny środków stosowanych podczas znieczulenia ogólnego u noworodków, niemowląt i dzieci?

Przegląd eksperymentalnych i klinicznych badań dotyczących działania neurodegeneracyjnego

Do we really know pharmacodynamics of anaesthetics used in newborns, infants and children?

A review of experimental and clinical data on neurodegeneration

Alicja Bartkowska-Śniatkowska¹, Jowita Rosada-Kurasińska¹, Marzena Zielińska², Agnieszka Bienert³

¹Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pediatricznej,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii,
Oddział Intensywnej Terapii Dziecięcej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Abstract

The practices of anaesthesiology and intensive therapy are difficult to imagine without sedation or general anaesthesia, regardless of whether the patient is a newborn, baby, child or adult. The relevant concerns for children are distinct from those for adults, primarily due to the effects of anatomical, physiological and pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) differences, which become increasingly important in the brains of children as they develop. The process of central nervous system maturation in humans lasts for years, but its greatest activity (myelination and dynoptogenesis) occurs during the fetal period and the first two years of life. Many experimental studies have demonstrated that exposure to anaesthetic drugs during this period can induce neurodegenerative changes in the central nervous systems of animals. The extrapolation of these results directly to humans must be performed with great caution, but anaesthesiologists around the world must begin to debate the safety of general anaesthesia in humans. Prospective trials should continue being carried out, and anaesthesia and surgery, delayed if possible among the smallest patients. The simultaneous use of different anaesthetics with the same potential neurotoxicities should also be avoided, potentially in favour of regional anaesthesia techniques, in this group of patients.

Key words: nervous system, central, sleep; nervous system, anaesthesia, neurodegeneration

Słowa kluczowe: układ nerwowy, ośrodkowy, sen; układ nerwowy, znieczulenie, neurodegeneracja

Anestezjologia Intensywna Terapia 2014, tom XLVI, nr 2, 111–118

Należy cytować wersję artykułu z:

Bartkowska-Śniatkowska A, Rosada-Kurasińska J, Zielińska M, Bienert A: Do we really know pharmacodynamics of anaesthetics used in newborns, infants and children? A review of experimental and clinical data on neurodegeneration. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2014; 46: 101–108.

Sen jest jedną z najbardziej tajemniczych zagadek, intrygujących nie tylko anestezjologów, ale również psychologów, neuropsychologów czy psychiatrów. Istotnym pytaniem dla wielu naukowców jest, co mózg robi podczas snu. Czy sen naturalny podobny jest do snu wywołanego lekami [1]? Czy sen farmakologiczny noworodka i niemowlęcia różni się od snu dziecka i dorosłego? Czy taki rodzaj snu może mieć wpływ na późniejszy rozwój psychologiczno-emocjonalny i funkcje poznawcze (kognitywne), czy zdolność uczenia się dziecka [2]?

Współczesną anestezjologię i intensywną terapię trudno wyobrazić sobie bez sedacji czy znieczulenia ogólnego, niezależnie czy pacjentem jest noworodek, niemowlę, dziecko czy dorosły. Populacja chorych pediatrycznych różni się jednak zasadniczo od dorosłych i wymusza odmienne oraz indywidualne podejście do każdego chorego dziecka. Odmienności anestezjologiczne dotyczą głównie różnic anatomiczno-fizjologicznych oraz farmakokinetyczno-farmakodynamicznych i są istotniejsze, gdy ich podłożem stanowi gwałtownie rozwijający się mózg dziecka.

Celem niniejszego artykułu jest przegląd piśmiennictwa dotyczącego podstaw snu naturalnego i anestetycznego, jak również neurodegeneracyjnego wpływu środków stosowanych podczas sedacji i znieczulenia ogólnego na mózg noworodka, niemowlęcia i małego dziecka.

DOJRZEWANIE OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO U DZIECKA

O rozwoju mózgu można mówić już w pierwszych kilkunastu dniach życia płodowego, kiedy z ektodermy zawiązuje się płytką nerwową, dająca podłoże do rozwoju cewy nerwowej. U ssaków mózgowie kształtuje się w 4.–6. tygodniu życia płodowego. W 7. tygodniu konfiguracja mózgu dziecka jest podobna do mózgu człowieka dorosłego; mózg wysyła impulsy, które koordynują funkcje niektórych organów. Wtedy też powstają pierwsze synapsy w mózgu [3].

Proces dojrzewania OUN trwa u człowieka przez całe lata, choć jego największa aktywność przypada na okres płodowy i pierwsze 2 lata życia. Istotnymi elementami procesu dojrzewania układu nerwowego, także w ujęciu anestezjologicznym, jest mielinizacja i synaptogeneza [4]. Pod koniec 2. trymestru życia płodowego mózg osiąga pełną liczbę neuronów tj. 100–160 miliardów, przy ich całkowitej liczbie w układzie nerwowym od 300 do 500 miliardów. Już od 5. miesiąca życia płodowego, dzięki oligodendrocytom, rozpoczyna się proces mielinizacji włókien nerwowych. Przed narodzinami dziecka zmielinizowane są jednak jedynie włókna przebiegające przez podwzgórze i jądra podkorowe. Dalsza mielinizacja następuje w pierwszych latach życia, obejmując kolejno drogi piramidowe i układ siatkowaty i kończąc ostatecznie ten proces we włóknach kojarzeniowych kory mózgowej dopiero około 20. rż.

Pierwsze synapsy tworzą się już w pod koniec 2. miesiąca życia płodowego. Znaczne zwiększenie ich liczby oraz aktywności przypada jednak na okres noworodkowy, niemowlęcy i pierwsze 2 lata życia, co ma związek z dynamicznym rozwojem i nabywaniem nowych umiejętności przez małe dziecko. Ostateczna liczba połączeń międzyneuronalnych to ponad 100 bln.

Rozwój i dojrzewanie układu nerwowego trwa wiele lat po narodzinach dziecka, a kontrolę nad życiem emocjonalno-psychicznym noworodka przejmują stopniowo obszary znajdujące się w górnych partiach mózgu. Do obszarów tych należą mózdzek i zwoje podstawy, biorące udział w kierowaniu ruchami; układ limbiczny, który kieruje emocjami i pamięcią oraz kora mózgowa, ośrodek wszystkich zachowań dowolnych, świadomych przeżyć i zdolności racjonalnych. Kora pozostaje w momencie narodzin dziecka najmniej uformowaną ze wszystkich części mózgu.

Prawidłowo wykształcone neurony i synapsy są szczególnie istotne dla niemowląt i małych dzieci w procesie kształtowania pamięci i zdolności uczenia się. Procesy zapamiętywania zachodzą dzięki olbrzymiej plastyczności układu nerwowego, polegającej na przekształcaniu struktury połączeń między neuronami. Mózg nie posiada jednego regionu odpowiedzialnego za pamięć, hipokamp uważany jest jednak za główne miejsce jej wzmocnienia, swoisty łącznik pomiędzy przeszłością a teraźniejszością. Inną istotną cechą mózgu jest stan jego świadomości, zwykle utożsamiany ze stanem umysłu [5]. Świadomość samego siebie dotyczy głównie ludzi, być może jeszcze delfinów, słoni i szympansov, i prawdopodobnie związana jest z prawą półkulą mózgu, a konkretnie z zakrętem obręczy i korą przedczołową. Uszkodzenie lub zaburzenie funkcji tych struktur mózgu we wczesnym okresie życia, na przykład pod wpływem niektórych leków, w tym środków anestetycznych, może prowadzić do zaburzeń emocjonalnych, poznawczych i zdolności uczenia się. Istotnym zatem zagadnieniem dla współczesnych anestezjologów, zwłaszcza tych, którzy są odpowiedzialni za znieczulanie dzieci, jest ocena wpływu środków stosowanych podczas znieczulenia czy sedacji na rozwijający się mózg dziecka.

MECHANIZMY SNU

Podstawową rolą fizjologicznego snu jest przywrócenie równowagi w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), używając języka informatycznego, „zresetowanie” komputera, jakim jest nasz mózg.

Kluczową kontrolę nad stanem snu i czuwania pełni podwzgórze i zlokalizowane w nim dwa jądra [6]. Jądro brzuszno-boczne przedwzrostkowe (VLPO, *ventrolateral preoptic nucleus*) jest odpowiedzialne za wywoływanie snu, natomiast jądro guzowato-suteczkowe (TMN, *tuberomammillary nucleus*) aktywuje stan czuwania. W aktywacji „przełącznika

sen/czuwanie" (*switch on/off*) istotną rolę odgrywają dwa neuroprzekazniki: kwas γ -aminomasłowy (GABA) z VLPO oraz histamina (HA) związana z pobudzeniem TMN, będącym jej jedynym źródłem w OUN [7]. Podczas snu neurony VLPO ulegają aktywacji, stymulują uwalnianie GABA do TMN, blokując neurony tego ośrodka i w ten sposób wywołując sen, z maksymalną aktywnością podczas fazy REM (*rapid eye movement*) i NREM (*non-rapid eye movement*). Pośrednim wskaźnikiem aktywności neuronów, tych i innych ośrodków w układzie nerwowym, jest komórkowy protoonkogen *c-fos*, którego ekspresja wzrasta wraz z pojawieniem się potencjałów czynnościowych w komórkach nerwowych [8]. Prawdopodobnie to właśnie neurony VLPO są punktem uchwytu działania większości znanych anestetyków.

Kolejny ośrodek biorący udział w regulacji stanu sen/czuwanie obejmuje neurony bocznego podwzgórza (LAT, *lateral hypothalamus*), wydzielające oreksynę A i B (dawniej hipokretyna 1 i 2), a których działanie wykazuje dodatkowo silną zależność z napięciem mięśni szkieletowych [9]. Podczas głębokiego snu aktywność tych neuronów stopniowo zmniejsza się, co potwierdza spadek ekspresji *c-fos* w tej okolicy, zwiększając się tylko sporadycznie w fazie REM. Podobny efekt kliniczny wywołują sewofluran i izofluran, których działanie może chwilowo znosić wyrzut endogennej oreksyny. Ten mechanizm najprawdopodobniej tłumaczy gwałtowne zwiększenie napięcia mięśniowego i wystąpienie drgawek, zwłaszcza u dzieci przy stosowaniu dużych stężeń sewofluranu [10].

Miejsce sinawe (LC, *locus coeruleus*), zlokalizowane w moście, stanowi największe źródło noradrenaliny (NA) w OUN. Aktywność neuronów tej okolicy największa jest podczas czuwania i aktywności, natomiast w fazie NREM zmniejsza się, ulegając dalszemu pogłębieniu w fazie REM. Deksmetomidyna, agonista α_2 -receptora, podana bezpośrednio do LC wywołuje efekt nasenny podobny do VLPO, wyrażony również zmniejszeniem ilości *c-fos*, odwrotnie niż ketamina [11, 12]. Kolejne neurony jądra nakrywkowego boczo-grzbietowego (LDT, *laterodorsal tegmental nucleus*) i jądra nakrywki konarowo-mostowej (PPT, *pedunculopontine tegmentum nucleus*) zawierają włókna cholinergiczne dochodzące do różnych okolic mózgu, w tym wzgórza, podwzgórza, substancji czarnej, kory mózgu i układu siatkowatego. Wydzielają one acetylocholinę (ACh) na zakończeniach nerwowych, zarówno podczas fazy aktywności, jak i fazy REM snu. Zastosowanie izofluranu i ketaminy oraz innych neurotransmiterów wiąże się ze zwiększeniem ilości GABA i zmniejszeniem ilości ACh w układzie siatkowatym [13, 14].

Istotną rolę, tym razem w regulacji rytmów dobowych (tzw. *circadian rhythms*), pełni ponad 20 tys. neuronów jądra nadskrzyżowaniowego (SCN, *suprachiasmatic nucleus*), wrażliwych na melatoninę. Otrzymują one informa-

cje bezpośrednio z siatkówki oka i przekazują je dalej do podwzgórza, przysadki, regulując wydzielanie melatoniny i serotoniny, a także modulując temperaturę ciała podczas snu [15]. U ludzi endogenne cykły aktywności jąder nadskrzyżowaniowych zachodzi przy udziale układów GABA-ergicznych i wynosi średnio 24 h 11 min, zachowując swój cykliczny rytm nawet podczas długotrwałego braku światła. Interesujące jest również to, że neurony tej okolicy posiadają zdolność ekspresji genowej, indukowalnej pod wpływem czynnika stymulującego, jakim jest bodziec świetlny [16].

Jeszcze innym aktywnym miejscem w mózgu, odpowiedzialnym za modulowanie snu jest jądro szwu, zlokalizowane w postaci charakterystycznej cienkiej linii w pniu mózgu, którego włókna nerwowe dochodzą do wyższych obszarów OUN, tj. wzgórza, podwzgórza, układu limbicznego i mózdzku, ale także do niżej położonych rogów tylnych rdzenia kręgowego, modulując procesy przewodzenia bólu. Substancją czynną, odpowiedzialną za wywoływanie snu fizjologicznego i wydzielaną na zakończeniach nerwowych tych włókien jest serotonina [17]. W badaniach doświadczalnych wykazano, że leki blokujące receptory dla serotoniny wywoływały nawet kilkudniowy brak snu. Warto także nadmienić, że produkcja serotoniny w chwili przyjścia dziecka na świat jest daleko mniejsza od tej, którą wytwarza osoba dojrzała, i powoli zwiększa się do chwili osiągnięcia przez dziecko 12. miesiąca życia. Tym między innymi tłumaczy się większą wrażliwość na ból noworodków i niemowląt, u których wyraźnie niedomagają endogenne mechanizmy, odpowiedzialne za ograniczenie dopływu bodźców bólowych do ponadrdzeniowych ośrodków związanych z percepcją bólu [18].

MECHANIZMY DZIAŁANIA LEKÓW NASENNYCH

Znieczulenie ogólne składa się z triady obejmującej głęboki sen (utrata świadomości), zniesienie bólu i zwiótczenie mięśni. Najtrudniejszym do wytłumaczenia, w aspekcie farmakodynamicznym, jest mechanizm odwracalnej utraty świadomości. Badania nad mechanizmami snu wywołanego lekami nasennymi zajęły kilkadziesiąt lat i mimo wprowadzenia wielu metod diagnostycznych, nadal nie są w pełni zrozumiałe [19, 20]. Najistotniejszym założeniem znieczulenia ogólnego czy sedacji jest ich całkowita odwracalność, co oznacza, że stosowane środki nie wywierają trwałego wpływu na mózg i rdzeń kręgowy człowieka. Niestety, to założenie uległo zmianie w ostatnich latach, kiedy w badaniach na zwierzętach udowodniono bezpośredni wpływ uszkadzający tych środków na niedojrzały OUN.

Teorie tłumaczące mechanizmy działania leków sedacyjnych i hipnotycznych ulegały wielokrotnym zmianom. Pierwsza z nich opierała się na niespecyficznym zjawiskach fizykochemicznych, a nie znajdując potwierdzenia, szybko upadła. Na przełomie XIX w. dwaj badacze, Meyer i Overton,

niezależnie od siebie opisali liniową zależność pomiędzy siłą działania środka znieczulającego a jego rozpuszczalnością w tłuszczach [21, 22]. Swoją teorię oparli oni na zjawiskach zachodzących w oliwie z oliwek. Zależność ta była tak silna, że sugerowała niespecyficzne działanie anestetyków, zależne tylko od ich rozpuszczalności w tłuszczach, a miejscem działania miała być wysoko lipofilna błona komórkowa w układzie nerwowym. Nie udało się jednak w ten sposób wytłumaczyć działania wszystkich środków, w tym ketaminy.

Te rozważania dały jednak podstawy do innej teorii, nazwanej teorią lipidową, według której lipofilne związki mogłyby wnikać do dwuwarstwowej błony komórkowej, zmieniać konfigurację jej fosfolipidów, upłynniać strukturę, a w efekcie prowadzić do zwiększenia jej objętości [23]. Przeciwno tej teorii przemawiał fakt, że wzrost temperatury o 1° C powodował podobne pogrubienie błon komórkowych i jednocześnie znosił działanie anestetyków. Uwspółcześiona teoria lipidowa zakłada, że anestetyk powoduje zmianę ciśnienia w dwuwarstwowej błonie komórkowej, co zmienia konformację błonowego kanału jonowego, w efekcie prowadząc do określonego efektu anestetycznego [24].

Według najnowszej współczesnej teorii kanałów jonowych, działanie anestetyków polega na modyfikacji wiązania neuroprzekazników z receptorami błonowymi, co doprowadza do otwarcia kanałów jonowych, czy to poprzez zmianę potencjału błonowego, czy bezpośrednio związanie z ligandem [25]. W praktyce anestezjologicznej najbardziej istotne receptory ligandowe dzielą się na receptory: pentamerowe — nikotynowy i acetylocholinowy (środki zwiotczające), serotoninowe 5-HT₃ (propofol, ondansetron), jonotropowe purynergiczne (pentobarbital), receptory związane z białkiem G-GPCR (*G protein-coupled receptor* — dla wszystkich receptorów adrenergicznych, muskarynowych, cholinergicznych i opioidowych), glicynowe (anestetyki wziewne), typ A kwasu γ -aminomasłowego GABA_A (większość znanych anestetyków), jonotropowe glutaminergiczne — NMDA (N-metylo-D-asparaginowy), AMPA (α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy) i kainianowe (podtlenek azotu, ksenon, ketamina).

MECHANIZMY DZIAŁANIA NEUROTOKSYCZNEGO ŚRODKÓW ANESTETYCZNYCH

Dwa ostatnie typy receptorów: GABA_A i NMDA, odgrywają niezwykle ważną rolę w praktyce anestezjologicznej (tab. 1). Receptor GABA_A znajduje się w błonie postsynaptycznej neuronów istoty szarej mózgu, głównie w korze mózgu i mózdzku, wzgórz, podwzgórz, układzie limbicznym. Chociaż efektem klinicznym pobudzenia receptora GABA_A jest zahamowanie funkcji mózgu, to w gruncie rzeczy nie jest on receptorem hamującym. Jego endogennym ligandem jest kwas γ -aminomasłowy, który w niedojrzałym mózgu noworodków, odwrotnie niż u dorosłych, jest neuroprze-

Tabela 1. Wybrane środki znieczulenia ogólnego i ich wpływ na receptory GABA i NMDA

| Środek | GABA _A agonista | NMDA antagonist |
|------------------|----------------------------|-----------------|
| Sewofluran | + | + |
| Desfluran | + | + |
| Izofluran | + | + |
| Podtlenek azotu | + | + |
| Propofol | + | |
| Tiopental | + | |
| Ketamina | | + |
| Etomidat | + | |
| Midazolam | + | |
| Wodzian chloralu | + | + |
| Fentanyl | | +/- |
| Morfina | | + |
| Metadon | | + |

GABA (*gamma amino benzoic acid*) — kwas γ -aminomasłowy; NMDA (*N-methyl-D-aspartic acid*) — kwas N-metylo-D-asparaginowy

kaźnikiem pobudzającym i tym tłumaczy się zjawisko indukowania drgawek przez podawany noworodkom, zwłaszcza tym przedwcześnie urodzonym, midazolam [26, 27]. Receptor zbudowany jest z kilku podjednostek: α_1 i α_2 , β_1 i β_2 oraz γ . Miejsce wiązania kwasu γ -aminomasłowego znajduje się pomiędzy częściami α i β , a leków z grupy benzodwuzepin, pomiędzy podjednostkami α i γ . Niektóre z tych receptorów ulegają aktywacji pod wpływem alkoholu czy steroidów, a także barbituranów. Efektem reakcji ligand–receptor jest otwarcie kanałów chlorkowych i hiperpolaryzacja błony nerwowej, z efektem klinicznym w postaci senności, niepamięci i zniesienia lęku. Barbiturany, w mechanizmie synergizmu, wydłużają czas otwarcia kanałów jonowych, zainicjowany wcześniej przez benzodwuzepiny [28].

Receptor NMDA jest zlokalizowany postsynaptycznie w dendrytach pobudzających hipokampa, kory mózgowej i rdzenia kręgowego, ale również presynaptycznie w aksonach. Antagonistami tego receptora są między innymi etanol i dizocyplina, stosowane głównie w badaniach eksperymentalnych, w których udowodniono uszkodzenie struktury komórki nerwowej po jej aplikacji [29].

Podsumowując, mechanizm działania środków stosowanych podczas sedacji czy znieczulenia ogólnego polega na nasilaniu procesów hamowania neuroprzekaznictwa, poprzez agonistyczny wpływ na receptor kwasu γ -aminomasłowego bądź na hamowaniu pobudzającego wpływu glutaminianu na receptor NMDA. Uszkodzenie neuronów może być, i raczej jest, spowodowane działaniem środków stosowanych podczas znieczulenia ogólnego właśnie poprzez receptory GABA i NMDA, które są miejscem działania większości środków stosowanych podczas znieczulenia. Efektem farmakodynamicznym jest zatem nie

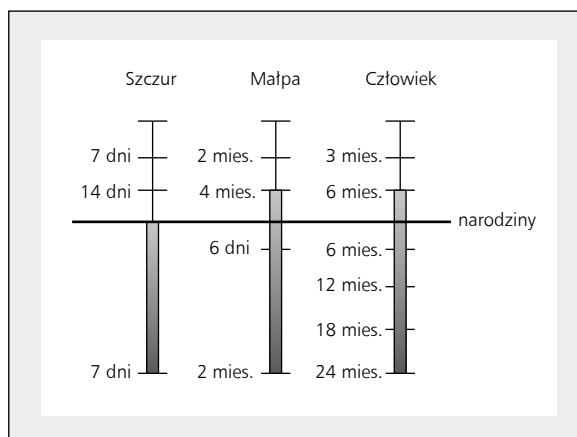
tylko pożądany efekt w postaci zniesienia świadomości, ale również niekorzystne działanie neurodegeneracyjne prowadzące do apoptozy, defragmentacji DNA i śmierci komórek OUN [30]. Złożony proces apoptozy zapoczątkowuje między innymi białko Bax (Bcl2-L-4), prowadząc początkowo do naruszenia integralności błony mitochondrium i następnie rozległej aktywacji kaspaz. Dezintegracji ulega również cytoszkielet komórki nerwowej, która traci kontakt z błoną podstawną. Pozostałe organelle komórkowe pozostają nie naruszone i w takiej formie usuwane są z obumarłej komórki. Jeżeli proces ten dotyczy komórek nerwowych w okresie ich intensywnej synaptogenezy (między 27. tygodniem od poczęcia a 3. rż.), może prowadzić do groźnych skutków w postaci nieodwracalnego uszkodzenia i zaburzeń funkcji mózgu.

Wpływ działania neurodegeneracyjnego środków stosowanych podczas znieczulenia ogólnego został zbadany i potwierdzony w wielu badaniach eksperymentalnych, przeprowadzonych na zwierzętach w okresie aktywnego dojrzewania ich OUN i stąd pochodzi większość danych. Ważnym zadaniem czekającym anestezjologów jest określenie, czy zjawisko to dotyczy również ludzi poddanych znieczuleniu ogólnemu i jeśli tak, to czy można temu zapobiec.

BADANIA EKSPERYMENTALNE

Doświadczenia przeprowadzone u gryzoni i naczelných, w okresach intensywnej synaptogenezy, wykazały bezpośredni uszkadzający wpływ środków anestetycznych na rozległe obszary w mózgu, pomimo utrzymywania homeostazy podczas ekspozycji na leki i wykluczenia innych szkodliwych czynników, takich jak niedotlenienie czy niedokrwienie. Gryzoni, a dokładnie szczury, rodzą się z mózgiem, który prezentuje wcześniejsze stadium rozwoju w porównaniu z noworodkami ludzkimi. Gwałtowny rozwój ich mózgow przypada na 1. tydzień życia, co odpowiada rozwojowi mózgow ludzi w 3. trymestrze ciąży i pierwszych 24 miesiącach życia. Ponieważ agoniści receptora GABA i antagoniści receptora NMDA powodują uszkodzenie mózgow szczurów w tym właśnie okresie, założono, że taki sam efekt neurodegeneracyjny może zachodzić u ludzi w odpowiadającym temu etapowi rozwoju mózgu. U małp *Macacus rhesus* odpowiednie zależności dotyczą ostatnich dwóch miesięcy ciąży i pierwszych dwóch miesięcy życia (ryc. 1).

Przełomem w badaniach nad neurotoksycznością anestetyków była praca Ikonomidou i wsp. [31], którzy zbadali wpływ dizocypliny, silnego antagonisty receptora NMDA, na rozwijające się mózgi szczurów, potwierdzając neurodegeneracyjny wpływ tego środka na korę mózgową aż 3 do 39 razy większy w porównaniu z grupą kontrolną. Podobne wyniki uzyskali oni także w odniesieniu do innych antagonistów NMDA, fencyklidyny i ketaminy, potwierdzając wcześniejsze dane. W kolejnym ważnym badaniu potwierdzono,



Rycina 1. Rozwój mózgu a ryzyko procesów neurodegeneracyjnych. Szarym kolorem zaznaczono okresy rozwoju mózgu o zwiększonym ryzyku wystąpienia zmian neurodegeneracyjnych (synaptogeneza i mielinizacja)

że znieczulenie trwające 6 h, z zastosowaniem midazolamu, podtlenku azotu i izofluranu wpływa degeneracyjnie na mózgi szczurów zależnie od rodzaju środka, ilości zastosowanych jednocześnie, czasu ekspozycji czy dawki [32]. Stopień apoptozy oceniano metodą immunocytochemiczną i histochemiczną w wybranych częściach mózgu, łącznie z oceną aktywności kaspaz. Uzyskane wyniki nie potwierdziły tego typu uszkodzenia komórek, gdy stosowano tylko jeden środek, niezależnie, czy był to midazolam, czy podtlenek azotu, natomiast w przypadku izofluranu, stopień zaawansowania apoptozy zależał od jego stężenia. Użycie dwóch czy trzech środków jednocześnie prowadziło zawsze do dramatycznej apoptozy w obrębie kory, wzgórza, hipokampa, a w efekcie do neurodegeneracji i deficytów synaptycznych, przetrwałych zaburzeń pamięci i zdolności uczenia się.

Porównując wpływ propofolu i sewofluranu na mózgi szczurze w okresie intensywnej synaptogenezy wykazano, że 4,5 h podażi propofolu, w odróżnieniu od sewofluranu, spowodowała trwale zmiany neurodegeneracyjne, utrzymujące się jeszcze długo w okresie późniejszym [33]. Prawdopodobnie powodem tych różnic były zbyt małe stężenia użytego sewofluranu, który podobnie do wcześniejszych obserwacji z izofluranem, zaczyna działać neurodegeneracyjnie w stężeniach równych co najmniej trzykrotnej wartości MAC [33].

Podobne działanie udowodniono także w odniesieniu do morfiny, która poprzez antagonistyczny wpływ na receptory NMDA indukuje zmiany neurodegeneracyjne w wybranych obszarach szczurzych mózgow (kora i ciało migdałowate). To spostrzeżenie wydaje się o tyle istotne, że jest ona powszechnie stosowana podczas długotrwałej sedacji w oddziałach intensywnej terapii noworodkowej (OITN) [34].

W ostatnich dziesięciu latach pojawiło się jeszcze wiele prac eksperymentalnych dotyczących różnych rodzajów

anestetyków, różnych ich dawek czy czasu podawania, które w mniejszy lub większy sposób potwierdzały wcześniejsze wyniki badań. Ważnym aspektem tych badań był zawsze wiek zwierząt, gdyż bezsporne jest to, że im młodsze było zwierzę, tym większe odnotowywano zmiany neurodegeneracyjne. Różnice gatunkowe mogą nasuwać pewne trudności w porównaniu z ludźmi i z tego względu rozszerzono badania na 6-dniowe małpy *Maccacus rhesus*, które poddawano działaniu izofluranu w stężeniu 3 MAC przez 5 h. Zaawansowaną apoptozę obserwowano wtedy nie tylko w neuronach, ale też komórkach glejowych, z zastrzeżeniem stosowania dużych stężeń izofluranu [35].

Niezwykle ciekawym zagadnieniem w aspekcie przenikania anestetyków przez łożysko i potencjalne działanie neurodegeneracyjne jest bezpieczeństwo płodu podczas operacji *in utero*. Receptory GABA w życiu dorosłym, odwrotnie niż w płodowym, pełnią rolę hamującą. Ich pobudzający charakter wiąże się ze zwiększonym stężeniem jonów chlorkowych wewnątrz komórki nerwowej, efektem czego jest jej depolaryzacja odgrywająca kluczową rolę w pobudzaniu neuronów, wykształcaniu prymitywnych odruchów, rozwoju i różnicowaniu neuronów. Te procesy mają na celu przygotowanie i adaptację płodu do stresu związanego z porodem. W badaniu eksperymentalnym na gryzoniach wykazano, że krótko przed porodem następuje odwrócenie przepływu jonów chlorkowych w kanałach jonowych wraz ze zmniejszeniem ich zawartości wewnątrzkomórkowo i tym samym odwrócenie aktywności receptorów GABA z pobudzających na hamujące. Wpływ na to zjawisko ma oksytocyna, która w takim właśnie mechanizmie hamuje neurony płodowe, czyniąc je tym samym mniej wrażliwymi na uszkodzenia spowodowane niedotlenieniem czy niedokrwieniem podczas porodu. Być może stają się one również mniej wrażliwe na neurotoksyczne działanie anestetyków. Podawanie *in vivo* antagonistów receptora oksytocyny (atosiban) hamowało to zjawisko i potęgowało anoksemiczne uszkodzenie neuronów [36].

BADANIA KLINICZNE

Wyniki powyższych badań eksperymentalnych skłoniły anestezjologów do rozważań dotyczących bezpieczeństwa i odwracalności znieczulenia ogólnego stosowanego u ludzi, zwłaszcza we wczesnym okresie życia [37]. Wielu autorów podjęło próby odpowiedzi na pytanie, czy zmiany neurodegeneracyjne stwierdzane w tych badaniach, zachodzą również u ludzi. Zadanie to okazało się jednak bardziej skomplikowane niż zakładano na podstawie badań eksperymentalnych, ze względu na kliniczne trudności z uniknięciem zaburzeń homeostazy krążeniowo-oddechowej podczas znieczulenia ogólnego. Zarówno niedokrwienie, na skutek kardiodepresyjnego działania anestetyków, jak również niedotlenienie, wskutek depresyjnego wpływu na układ

oddechowy, może prowadzić do podobnych zmian neurodegeneracyjnych, ograniczając tym samym większość prezentowanych prac. Przebadano retrospektywnie populację 5320 dzieci powyżej 5. rż., oceniając ich trudności w uczeniu się, 193 dzieci urodziło się cięciem cesarskim w znieczuleniu ogólnym, a 320 w regionalnym. Grupę kontrolną stanowią dzieci urodzone siłami natury. Podczas znieczulenia ogólnego zastosowano między innymi: tiopental — 189 dzieci (96%), ketaminę — 4 (1%), podtlenek azotu — 191 (97%), halotan — 105 (53%), metoksyfluran — 42 (21%), enfluran — 15 (8%), izofluran — 6 (3%). Nie stwierdzono istotnych trudności w uczeniu się u dzieci urodzonych bądź cięciem cesarskim w znieczuleniu ogólnym, bądź podczas porodu fizjologicznego. Ciekawe jednak jest spostrzeżenie, że nieznacznie mniejsze zaburzenia obserwowano w grupie dzieci, których matki zostały poddane znieczuleniu regionalnemu do cięcia cesarskiego. Autorzy sugerują zatem, że krótkotrwała ekspozycja na środki znieczulenia ogólnego nie wpływa na długoterminowe zaburzenia neurorozwojowe [38].

W kolejnym retrospektywnym badaniu kohortowym analizie poddano grupę 5357 dzieci urodzonych w latach 1976–1982, z których u 932 obserwowano zaburzenia uczenia się, i z których 593 poddanych było co najmniej jeden raz znieczuleniu ogólnemu w pierwszych czterech latach życia. Ryzyko tych zaburzeń ulegało zwiększeniu wraz z liczbą znieczuleń przebytych w dzieciństwie ($p < 0,001$) [39]. W kolejnym badaniu analizą obserwacyjną objęto dzieci, poddane znieczuleniu ogólnemu w ciągu pierwszych 24 miesięcy życia (grupa I) lub powyżej 24 miesiąca życia (grupa II). Ocenił ich zachowania behawioralne wg CBCL/4-18 (*Child Behavior Checklist/4-18*), wyróżniając dwa okresy wiekowe badanych tj. 4–11 i 12–18 lat. W grupie pierwszej dwukrotnie częściej stwierdzano różnego stopnia niepełnosprawność umysłową, problemy w szkole czy konieczność powtarzania klasy [40].

Przeciwnie do tych doniesień, DiMagio i wsp. [41] nie stwierdzili opóźnień rozwoju, zaburzeń językowych, deficytu uwagi, zaburzeń koordynacji czy zachowania u 306 dzieci poddanych znieczuleniu w pierwszych trzech latach życia spośród ponad 10 450 badanych rodzeństw. Wprawdzie autorzy sugerują, że taka korelacja mogłaby mieć miejsce, jeśli zastosowanych zostałoby kilka środków o podobnym potencjale neurotoksycznym, nie zaprezentowali oni jednak żadnych istotnych wyników.

W Danii wszystkie dzieci standardowo poddawane są testom w wieku 15–16 lat, w tak zwanym 9. stopniu ich szkolnej edukacji, uzyskane wyniki umożliwiły szeroką analizę ponad 2600 dzieci, poddanych operacji przepukliny w okresie niemowlęcym. Grupę kontrolną stanowiło wybranych losowo 14 000 dzieci, reprezentujących 5% całkowitej populacji dzieci duńskich. Wszyscy badani wypełniali testy

punktowane od 0 do 13, obejmujące wiedzę z języka duńskiego, języków obcych, matematyki, nauk ścisłych oraz społecznych. Nie wykazano różnic pomiędzy grupami badanymi a kontrolnymi, jak również pomiędzy płcią żeńską i męską; wszystkie dzieci osiągnęły średnią powtarzalną punktację równą 8 [42].

Niezwykle trudno ekstrapolować wyniki badań eksperymentalnych przeprowadzanych na zwierzętach bezpośrednio na ludzi, ze względu na znaczne różnice anatomiczne i fizjologiczne. Szczyt synaptogenezy u gryzoni jest największy w 7. dniu życia, choć trwa jeszcze kilka tygodni dłużej. U ludzi okres ten jest zdecydowanie dłuższy, a najbardziej krytycznym okresem są pierwsze trzy lata życia.

Pomimo tych zastrzeżeń, niezwykle obiecujące wyniki zaprezentowano w badaniu eksperymentalnym, w którym gryzoniom poddanym znieczuleniu wziewnemu podawano jednocześnie deksmedetomidynę. Takie postępowanie ujawniło jej ochronny wpływ na zdolności poznawcze, uczenie się i procesy zapamiętywania. Być może dalsze badania nad tym aspektem działania agonistów receptora α_2 wpłyną na zmianę dotychczasowego sposobu znieczulania dzieci i sprawią, że częściej stosowany będzie ten właśnie preparat, zwłaszcza, że profil farmakokinetyczno-farmakodynamiczny agonistów receptora α_2 daje nadzieję na korzystne efekty kliniczne [43]. Szczurze noworodki poddawano ekspozycji na izofluran w stężeniu 0,75% w mieszaninie z tlenem lub powietrzem a następnie dootrzewnowno podawano im deksmedetomidynę w dawkach 1, 10, 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ lub tylko w dawce 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ jednocześnie z jej antagonistą atipemazolem w ilości 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Bezpośrednio po aplikacji tych środków, a następnie w 2. i 4. h oceniano aktywność kaspaz w różnych regionach mózgu (kora mózgowa, hipokamp, wzgórze). Najmniejszą aktywność tych pro-apoptycznych enzymów obserwowano w grupie, w której zastosowano największą dawkę deksmedetomidyny. Natomiast największą i jednocześnie porównywalną z grupą kontrolną (0,9% NaCl), uzyskano w grupie otrzymującej jednocześnie deksmedetomidynę i atipemazol. Autorzy tłumaczą mechanizm działania neuroprotekcijnego, na podstawie aktywacji endogennego α_2 -noradrenergicznego systemu, łączącego się z aktywacją szlaku i czynnika pERK-Bcl-2, odpowiedzialnego za hamowanie apoptozy neuronów. Aktywacja podtypu receptora imidazolowego, poprzez stymulację innych enzymów, na przykład pERK (*extracellular-signal-regulated kinases*) uruchamia również alternatywny mechanizm neuroprotekcyny [44].

W kilku innych badaniach laboratoryjnych uzyskano korzystny efekt ochronny w OUN po zastosowaniu melatoniny, litu, ksenonu czy hipotermii [45]. Obiecujące mogą okazać się również działania pozafarmakologiczne, takie jak ćwiczenia usprawniające, restrykcyjna dieta czy progresywne oddziaływania środowiskowe [46, 47].

PODSUMOWANIE

Wyniki badań eksperymentalnych z ostatnich 10 lat wykazują związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy środkami stosowanymi podczas znieczulenia ogólnego a uszkodzeniem OUN i zaburzeniami w rozwoju zwierząt. Przeniesienie tych wyników bezpośrednio na ludzi wymaga dużej ostrożności, ze względu na oczywiste różnice anatomiczno-fizjologiczne, jak również budzące wiele kontrowersji zastosowane metody badawcze (bardzo duże stężenia środków, długi czas ekspozycji, łączenie wielu anestetyków) [48]. Przydatność prezentowanych dotychczas badań klinicznych ma ograniczoną wartość ze względu na ich epidemiologiczny wymiar, jak również analizę danych obejmującą jednośrodkowe źródła administracyjne, ograniczone do określonych regionów geograficznych. Należy także podkreślić, że apoptoza w OUN ma wymiar korzystny, umożliwiający wzrost i różnicowanie 50–70% neuronów, dając tym samym szansę na rozwój mózgu. Tym niemniej, anestezjologowie nie unikną coraz szerszej debaty nad bezpieczeństwem środków stosowanych przez nich w codziennej praktyce.

W 2011 roku z inicjatywy IARS (*International Anesthesia Research Society*) i FDA (*Food and Drug Administration*) rozpoczęto współpracę międzynarodową, której celem są działania na rzecz zwiększenia bezpieczeństwa dzieci poddanych znieczuleniu. Inicjatywę tę poparły towarzystwa naukowe z całego świata: ASA (*American Society of Anesthesiologists*), ESA (*European Society of Anaesthesiology*), AAP (*American Academy of Paediatrics*), SNACC (*Society for Neuroscience in Anesthesiology and Critical Care*) i SPA (*Society for Pediatric Anesthesia*). W grudniu 2012 roku ogłoszono deklarację „*Consensus Statement*”, w której czytamy: „*exposure to commonly used anesthetics may produce adverse neurobehavioral effects*”, i dalej: „*in the absence of conclusive evidence, it would be unethical to withhold sedation and anesthesia when necessary*” (www.smarttots.org) [49]. Konieczne jest zatem kontynuowanie rozpoczętych już nowych badań retrospektywno-prospektywnych (PANDA [*Pediatric Anesthesia and Neurodevelopment Assessment*], MASK [*Mayo Anesthesia Safety in Kids*]) i prospektywnych (GAS, *General And Spinal — Multi-site Randomized Controlled Trial Comparing Regional and General Anesthesia for Effects on Neurodevelopmental Outcome*), których pierwszych wyników należy oczekiwać za 2–3 lata. Do tego czasu można rozważyć odroczenie znieczulenia i operacji u najmniejszych chorych, a tam, gdzie jest ona konieczna i o ile jest to możliwe, przeprowadzić ją szybko i sprawnie; unikać jednoczesnego stosowania różnych środków anestetycznych o tym samym potencjale neurotoksycznym, a także zwiększyć udział technik znieczulenia regionalnego w tej grupy wiekowej chorych. Takie postępowanie pozwala na zachowanie zasad ogłoszonych w Deklaracji Helsińskiej

w 2010 roku, podkreślających rolę anestezjologii w promowaniu bezpiecznej opieki okołoperacyjnej [50].

Piśmiennictwo:

- Mashour GA, Pal D: Interfaces of sleep and anesthesia. *Anesthesiol Clin* 2012; 30: 385–398.
- Lydic R, Biebuyck JF: Sleep, anesthesiology, and the neurobiology for mechanistic studies of anesthesia. *Br J Anaesth* 2005; 103: 1269–1295.
- Bochenek A, Reicher M: Anatomia człowieka. Tom IV: Układ nerwowy ośrodkowy. Warszawa 2000.
- Shors TJ: Memory traces of trace memories: neurogenesis, synaptogenesis and awareness. *Trends Neurosci* 2004; 27: 250–256.
- van Praag H, Schinder AF, Christie BR et al.: Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 2002; 415: 1030–1034.
- Stahl SM: Disorders of sleep and wakefulness and their treatment in Stahl's Essential Psychopharmacology. Neuroscientific basis and practical applications. Cambridge University Press 2013.
- Thakkar MM: Histamine in the regulation of wakefulness. *Sleep Med Rev* 2011; 15: 65–74.
- Gong H, McGinty D, Guzman-Marín R et al.: Activation of c-fos in GABA-ergic neurons in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation. *J Physiol* 2004; 556: 935–946.
- Lee MG, Hassani OK, Jones BE: Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 2005; 25: 6716–6720.
- Kelz MB, Sun Y, Chen J et al.: An essential role for orexins in emergence from general anesthesia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 1309–1314.
- Correa-Sales C, Rabin MC, Maze M: A hypnotic responses to dexmedetomidine, an alpha 2 agonist, is mediated in the locus coeruleus in rats. *Anesthesiology* 1992; 76: 948–952.
- Kushikata Y, Yoshida H, Kudo M et al.: Role of coerulean noradrenergic neurons in general anaesthesia in rats. *Br J Anaesth* 2011; 107: 924–929.
- Lydic R, Baghdoyan HA: Ketamine and MK-801 decrease acetylcholine release in the pontine reticular formation, slow breathing, and disrupt sleep. *Sleep* 2002; 25: 617–622.
- Vanini G, Watson CJ, Lydic R et al.: Gamma-aminobutyric acid-mediated neurotransmission in the pontine reticular formation modulates hypnosis, immobility, and breathing during isoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 2008; 109: 978–988.
- Buhr ED, Yoo S-H, Takahashi JS: Temperature as a universal resting cue for mammalian circadian oscillator. *Science* 2010; 330: 379–385.
- Yuferov V, Butelman ER, Kreek MJ: Biological clocks may modulate drug addiction. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 1101–1103.
- Monti JM, Jantos H: The roles of dopamine and serotonin, and of their receptors, in regulating sleep and waking. *Prog Brain Res* 2008; 172: 625–646.
- Hornung JP: The human raphe nuclei and the serotonergic system. *J Chem Neuroanat* 2003; 26: 331–343.
- Lu J, Nelson NE, Franks N et al.: Role of endogenous sleep-wake and analgesic systems in anesthesia. *J Comp Neurol* 2008; 508: 648–662.
- Nelson Le, Guo Zo, Lu J et al.: The sedative component of anesthesia is mediated by GABA_A receptors in an endogenous sleep pathway. *Nature Neuroscience* 2002; 5: 979–984.
- Meyer HH: Welche eigenschaft der anasthetica bedingt ihre Narkotische wirkung? *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1899; 42: 109–118.
- Overton CE: Studien über die Narkose zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie. Gustav Fischer, Jena, Switzerland 1901.
- Miller KW, Paton WD, Smith RA, Smith EB: The pressure reversal of general anesthesia and the critical volume hypothesis. *Mol Pharmacol* 1973; 9: 131–413.
- Cantor RS: Breaking the Meyer-Overton rule: predicted effects of varying stiffness and interfacial activity on the intrinsic potency of anesthetics. *Biophys J* 2001; 80: 2284–2297.
- Franks NP, Lieb WR: Do general anaesthetics act by competitive binding to specific receptors? *Nature* 1984; 16: 599–601.
- Ben-Ari Y: Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 728–739.
- Ben-Ari Y: GABA excites and sculpts immature neurons well before delivery: modulation by GABA of the development of ventricular progenitor cells. *Epilepsy Curr* 2007; 167–169.
- Clayton T, Helmstetter FJ, Furtmüller R et al.: An updated unified pharmacophore model of the benzodiazepine binding site on gamma-aminobutyric acid(a) receptors: correlation with comparative model. *Curr Med Chem* 2007; 14: 2755–2775.
- Mathias R: Ketamine, PCP, and Alcohol trigger widespread cell death in the brains of developing rats. *NIDA Notes* 2000; 15: 6–7.
- Fredriksson A, Archer T, Alm H et al.: Neurofunctional deficit and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behav Brain Res* 2004; 53: 367–376.
- Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M et al.: Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science* 1999; 283: 70–74.
- Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y et al.: Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003; 23: 876–882.
- Bercker S, Bert B, Bittigau P et al.: Neurodegeneration in newborn rats following propofol and sevoflurane anesthesia. *Neurotox Res* 2009; 16: 140–147.
- Bajic D, Commons KG, Soriano SG: Morphine-enhanced apoptosis in selective brain regions of neonatal rats. *Int J Dev Neurosci* 2013; 31: 258–266.
- Zou X, Liu F, Zhang X et al.: Inhalation anesthetic-induced neuronal damage in the developing rhesus monkey. *Neurotoxicol Teratol* 2011; 33: 592–597.
- Tyzio R, Cossart R, Klailov I et al.: Maternal oxytocin triggers a transient inhibitory switch in GABA signaling in the fetal brain during delivery. *Science* 2006; 314: 1788–1792.
- Borys M, Piwowarczyk P, Rypulak E et al.: Experimental and clinical data on the influence of drugs used during general anaesthesia on neurodegeneration. *Anestezjologia i Ratownictwo* 2012; 6: 76–82.
- Sprung J, Flick RP, Wilder RT et al.: Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology* 2009; 111: 302–210.
- Wilder RT, Flick RP, Sprung J: Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology* 2009; 110: 796–804.
- Kalkman CJ, Peelen LM, Moons KG et al.: Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure. *Anesthesiology* 2009; 110: 805–812.
- DiMaggio C, Sun L, Li G: Early childhood exposure to anesthesia and risk of developmental and behavioral disorders in a sibling birth cohort. *Anesth Analg* 2011; 113: 1143–1151.
- Hansen, Pedersen JK, Henneberg SW et al.: Academic performance in adolescence after inguinal hernia repair in infancy: A Nationwide Cohort Study. *Anesthesiology* 2011; 114: 1076–1085.
- Wujtewicz M, Maciejewski D, Misiolek H et al.: Use of dexmedetomidine in the adult intensive care unit. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2013; 45: 235–240.
- Sanders RD, Xu J, Shu Y et al.: Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced neurocognitive impairment in neonatal rats. *Anesthesiology* 2009; 110: 1077–1085.
- Nemergut ME, Aganga D, Flick RP: Anesthetic neurotoxicity: what to tell parents? *Paediatr Anaesth* 2014; 24: 120–126.
- Van Praag H, Kempermann G, Gage FH: Neuronal consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* 2000; 1: 191–198.
- Van Praag, Shubert T, Zhao C et al.: Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 2005; 25: 8680–8685.
- Jevtovic-Todorovic V: Developing brain and general anesthesia — is there a cause for concern? *Med Rep* 2010; 2: 68–71.
- Consensus Statement. <http://www.smarttots.org/media/smarttots-releases-consensus-statement-regarding-anesthesia-safety-in-children>. 2010.
- Mellin-Olsen J, Staender S, Whitaker DK, Smith AF: The Helsinki Declaration in Patient Safety in Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol* 2010; 27: 592–597.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Alicja Bartkowska-Śniatkowska
Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pediatricznej
Szpital Kliniczny im. Karola Jonschera
ul. Szpitalna 27/33, 60–572 Poznań
e-mail: asniatko@ump.edu.pl

Otrzymano: 4.02.2014 r.
Zaakceptowano: 2.03.2014 r.