

## SCOPO DEL PROGETTO

I farmaci anestetici sono agenti farmacologici diffusamente usati nella moderna anestesia proprio per la loro capacità di inibire l'attività neuronale che clinicamente si manifesta con la perdita dello stato di coscienza e l'insensibilità allo stimolo doloroso.

Negli ultimi 60 anni, i progressi fatti dalla moderna anestesia hanno permesso di eseguire interventi chirurgici complessi negli stadi precoci dello sviluppo cerebrale umano (interventi chirurgici *in utero* e/o nei primi giorni di vita) e di eseguire sedazioni prolungate nelle terapie intensive pediatriche, determinando un incremento nella sopravvivenza dei neonati prematuri.

La somministrazione di anestetici generali a neonati, infanti e a donne in gravidanza ovvero l'esposizione del SNC immaturo a questi farmaci è considerata una pratica ormai sicura, ma possiamo affermarlo con assoluta certezza?

Recenti studi *in vivo* [33,34,36,86,87] ed *in vitro* [81] mostrano che gli anestetici generali potrebbero danneggiare i neuroni in via di sviluppo. Per esempio, è stato dimostrato che alcune classi di anestetici endovenosi come i barbiturici [8,34,62], benzodiazepine [8, 34,62], e la ketamina [33,73,76] causano una severa e diffusa degenerazione neuronale nel cervello immaturo di mammiferi. Inoltre la prof.ssa Jevtovic-Todorovic V ha di recente pubblicato un lavoro che conferma che l'esposizione del cervello immaturo di ratti, durante il picco del loro sviluppo cerebrale (ovvero durante la sinaptogenesis), al gas anestetico isoflurano da solo o in combinazione con protossido d'azoto (N<sub>2</sub>O, gas anestetico) e midazolam (benzodiazepine per uso endovenoso) per 6 h causa una diffusa degenerazione neuronale, di natura apoptotico, nel loro cervello immaturo [36,86]. Inoltre, quando i ratti , esposti all'anestesia nei primi giorni di vita (periodo che corrisponde allo

sviluppo cerebrale), sono stati testati in età adulta, hanno presentato persistenti deficit di apprendimento e di memoria [36].

L'iniziale allarmismo derivante dal fatto che i farmaci comunemente usati per l'anestesia generale possono essere dannosi per il cervello immaturo di mammiferi e dalla mancanza di dati clinici che autorizzino a designare un farmaco anestetico più sicuro rispetto ad un altro [bibliografia dal 55] è stato ridimensionato dalle numerose critiche mosse agli stessi lavori animali.

Le principali critiche hanno riguardato argomenti importanti quali: la durata di esposizione all'anestesia rispetto alla durata dello sviluppo cerebrale e il controllo dell'omeostasi cardio-respiratoria e metabolica durante l'anestesia. Per esempio, 6 ore di esposizione all'anestesia rappresentano un intervallo di tempo estremamente lungo in relazione alla breve durata dello sviluppo cerebrale nei ratti e nei roditori che è di circa 2-3 settimane. Fatta eccezione per i neonati prematuri e neonati malati che vengono mantenuti sedati profondamente a volte per settimane nelle terapie intensive pediatriche, in genere la durata di esposizione alla anestesia in ambito pediatrico ed ostetrico è relativamente breve (minuti/ore). Per un'appropriate valutazione del rischio umano diventa di cruciale importanza risolvere la questione riguardante la relazione esistente tra durata di esposizione all'anestesia, necessaria per innescare il danno neuronale, in una specie animale con una sinaptogenesis più lunga ovvero se un periodo di sviluppo cerebrale più lungo diventa il fattore protettivo nei confronti del danno secondario all'anestesia.

Inoltre una altro critica fondamentale, che hanno ricevuto gli studi sugli animali, ha riguardato la mancanza di un monitoraggio adeguato dei parametri metabolici e cardio-respiratori dei ratti. Nella pratica clinica anestesologica, sia in ambito pediatrico e non, è previsto che tutti i parametri vitali (pressione arteriosa sistolica, media e diastolica, e frequenza cardiaca), respiratori ( gas espirati, emogas analisi, SaO<sub>2</sub>) e

metabolici siano registrati in continuo in modo invasivo o non-invasivo. A causa delle piccole dimensioni corporee dei ratti, non è stato possibile applicare un monitoraggio adeguato di tutti i parametri vitali e questo ha sollevato un'altra importante questione su possibili cause di danno neuronale apoptotico, indipendenti dall'anestesia, quali: l'inadeguatezza della perfusione tissutale (ischemia), un'inappropriata ventilazione e ossigenazione (ipossiemia) e il mancato controllo glicemico (ipoglicemia) [2,65]. Il possibile ruolo dell'ipoglicemia, come causa principale del danno cerebrale, è stato rafforzato da recenti scoperte su cuccioli di topi che, durante l'esposizione all'isoflurano hanno sviluppato una ipoglicemia severa [47], che è stata riconosciuta responsabile del danno neuronale a macchie di leopardo nel cervello immaturo e che può correlarsi a deficit di apprendimento in età adulta [17,50,51].

Nonostante i numerosi studi animali sui ratti e sui topi, sono rimasti da risolvere due importanti quesiti:

1. se esiste una correlazione tra la durata dello sviluppo cerebrale a la durata di esposizione all'anestesia necessaria per attivare il processo di degenerazione apoptotica neuronale, ovvero se è necessaria un'esposizione più lunga per innescare la neurodegenerazione apoptotica in specie animali con un più lungo sviluppo cerebrale?
2. il mantenimento di un'adeguata omeostasi dei parametri cardio-respiratori (pressione arteriosa, frequenza cardiaca, ossigenazione tissutale e ventilazione) e metabolici (glicemia, concentrazioni di bicarbonati e pH arterioso), che fanno parte della quotidiana pratica clinica, è in grado di ridurre la severità del danno neuronale descritto ed attribuito solo ed esclusivamente all'anestesia?

Al fine di rispondere a questi due importanti quesiti abbiamo progettato il nostro studio con due nuove specie animali: guinea pig gravide e piglet. Lo sviluppo cerebrale nei guinea pig e nei piglet, è

rispettivamente 5 e 10 volte più lungo di quello dei ratti [17]. L'impiego di guinea pig gravide è stato necessario perché il loro "the growth spurt period" è un fenomeno prevalentemente prenatale (alla nascita i guinea pig sono completamente sviluppati). Le maggiori dimensioni sia delle guinea pig gravide che dei piglet hanno permesso l'applicazione di uno stretto monitoraggio dei parametri vitali cardio-respiratori e metabolici simile a quello usato nella moderna pratica clinica. Da ricordare che alla base del nostro lavoro c'è l'assunto, universalmente accettato anche in anestesia ostetrica, che un adeguato controllo dell'omeostasi materna dovrebbe assicurare un'adeguata omeostasi fetale [28,44,58,59,69,83]. Un altro argomento di fondamentale importanza per il nostro studio, è stato valutare possibili effetti a lungo-termine dell'anestesia sul cervello in via di sviluppo, ovvero se l'esposizione all'anestesia durante il picco della sinaptogenesi determina una perdita permanente di neuroni in tutte le regioni cerebrali vulnerabili nel cervello maturo oppure se dato l'eccesso di neuroni immaturi toti-potenti, i neuroni danneggiati durante lo sviluppo possono essere sostituiti senza alterare la densità neuronale finale.