



УДК 616.12-089

DOI 10.17802/2306-1278-2025-14-6S-126-135

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КЕТАМИНА НА КЛЕТОЧНУЮ МОДЕЛЬ НЕЙРОВАСКУЛЯРНОЙ ЕДИНИЦЫ И ЕГО НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ РОЛИ У ДЕТЕЙ ПРИ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ

А.А. Ивкин¹, Е.Д. Хилажева², А.И. Мосягина², А.А. Михайлова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; ² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, Российская Федерация, 660022

Основные положения

• Данная статья посвящена исследованию влияния кетамина на клеточную модель нейроваскулярной единицы при моделировании условий, подобных кардиохирургической операции.

Цель

Выявить эффекты кетамина на клеточную модель нейроваскулярной единицы в условиях моделирования гипоксии и действия ИЛ-6.

Материалы и методы

Сформирована модель нейроваскулярной единицы (НВЕ) *in vitro*, состоящая из нейронов, астроцитов и эндотелиоцитов. Условиями нормоксии являлось содержание кислорода в среде 20%, гипоксии – 4%. Для выявления потенциальных эффектов кетамина на культуру нейроваскулярной единицы клетки культивировали с сывороткой, полученной от трёх групп пациентов с различными схемами применения: после инфузии кетамина на протяжении 16 часов в дозе 0,1 мг/кг/час, в дозе 0,3 мг/кг/час и от пациентов, которым не проводилась инфузия кетамина. Все три группы клеток далее были инкубированы в условиях нормоксии и гипоксии с дальнейшим определением интенсивности флуоресценции окклюдина-1, клаудина-5 и экспрессии.

Результаты

Интенсивность флуоресценции окклюдина-1 и клаудина-5 не отличалась между группами с различным содержанием кетамина и контрольной группой; в условиях гипоксии изменений не произошло. Интенсивность флуоресценции для экспрессии рецепторов интерлейкина-1 и интерлейкина-6 снизилась в группе с применением кетамина, с увеличением дозы кетамина эффект усиливался. В условиях гипоксии снижение интенсивности флуоресценции было более выраженным.

Заключение

Воздействие кетамина на клетки НВЕ в эксперименте *in vitro* не оказало значимого влияния на экспрессию белков плотных контактов в условиях нормоксии и гипоксии, однако привело к снижению экспрессии рецепторов интерлейкинов, которое было дозозависимым и более выраженным после воздействия гипоксии на клетки НВЕ.

Ключевые слова

Нейроваскулярная единица • Кетамин • Нейропротекция • Врожденные пороки сердца

Поступила в редакцию: 07.10.2025; поступила после доработки: 22.10.2025; принята к печати: 02.11.2025

Для корреспонденции: Артём Александрович Ивкин, aai-tema@mail.ru; адрес: бульвар имени академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Artem A. Ivkin, aai-tema@mail.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

INVESTIGATION OF KETAMINE EFFECTS ON A CELLULAR MODEL OF THE NEUROVASCULAR UNIT AND ITS NEUROPROTECTIVE ROLE IN CHILDREN UNDERGOING CARDIAC SURGERY

A.A. Ivkin¹, E.D. Khilazheva², A.I. Mosyagina², A.A. Mikhailova¹

¹ Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002; ² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Health of the Russian Federation, 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022

Highlights

- This article is devoted to the study of the effect of ketamine on the cellular model of the neurovascular unit in modeling conditions similar to cardiac surgery.

Aim

To reveal the effects of ketamine on the cell model of the neurovascular unit within hypoxia and the impact of IL-6.

Methods

An in vitro neurovascular unit (NVE) model consisting of neurons, astrocytes, and endotheliocytes has been formed. The normoxia conditions were the oxygen fraction in the medium of 20%, hypoxia – 4%. To identify the effect of ketamine on the culture of the neurovascular unit, cells were cultured with serum obtained from three groups of patients at different points: after ketamine infusion for 16 hours at a dose of 0.1 mg/kg/hour, at a dose of 0.3 mg/kg/hour, and from patients who did not receive ketamine infusion. All three groups of cells were further cultured under conditions of normoxia and hypoxia.

Results

The fluorescence intensity of occludin-1 and claudin-5 did not differ between the groups with different ketamine levels and the control group, and there were no changes under hypoxic conditions. The fluorescence intensity for the expression of interleukin-1 and interleukin-6 receptors decreased in the ketamine group, and the effect increased with increasing ketamine dose. Under hypoxic conditions, the decrease in fluorescence intensity was more significant.

Conclusion

The effect of ketamine on NVU cells in an in vitro experiment did not significantly affect the expression of tight junction proteins under conditions of normoxia and hypoxia, however, it led to decreasing expression of interleukin receptors, which was more significant after exposure to hypoxia on NVU cells.

Keywords

Neurovascular unit • Ketamine • Cerebral protection • Congenital heart defects

Received: 07.10.2025; received in revised form: 22.10.2025; accepted: 02.11.2025

Список сокращений

ВПС – врождённые пороки сердца
ИК – искусственное кровообращение
СВО – системный воспалительный ответ

НВЕ – нейроваскулярная единица, рецепторы интерлейкина-1 – (ILR1), рецепторы интерлейкина-6 – (ILR6)

Введение

Кардиохирургические вмешательства у детей, особенно с использованием искусственного кровообращения, сопровождаются рядом факторов, негативно влияющих на центральную нервную систему. Основными из них являются ишемия и реперфузия, гипоксия, гипотермия, а также системное воспаление, инициируемое контактом крови с поверхностью экстракорпорального контура. Эти патологические процессы приводят к нарушению гематоэнцефалического барьера, активации глиаль-

ных клеток, образованию свободных радикалов и цитокинов, что в совокупности способствует развитию нейронального повреждения, когнитивных нарушений и долгосрочной церебральной дисфункции у детей [1–4].

Имеется необходимость поиска эффективных нейропротекторных стратегий, способных минимизировать повреждения мозга и снизить вероятность ухудшения когнитивные функции. Одним из перспективных препаратов в этом направлении является кетамин – анестетик с уникальными свойствами,

включающими антагонистическую активность к NMDA-рецепторам, что позволяет ему реализовывать нейропротективное действие. Механизм нейропротекции кетамина связан с блокадой возбуждающих глутаматных сигналов, что снижает образование свободных радикалов, уменьшает кальциевую нагрузку на нейроны и подавляет каскады апоптоза и воспаления в ткани мозга [5, 6]. Также имеются экспериментальные данные о лимитирующем влиянии кетамина на нейровоспаление посредством блокады TLR4/MAPK/NF-κB [7], а также его способности к увеличению экспрессии мозгового нейротрофического фактора и улучшению процессов нейропластичности [8]. Свойства кетамина к ингибированию нейровоспаления посредством активации мозгового нейротрофического фактора подтверждаются и другим исследованием, проведенным на мышах с моделированием септической энцефалопатии [9]. Данные другого исследования показали также, что низкие дозы кетамина могут оказывать нейропротекторное действие путем активации α7-nAChR-опосредованного холинергического противовоспалительного пути [10].

Таким образом, использование кетамина в кардиохирургии у детей представляет собой перспективный подход к снижению риска церебральных повреждений, обусловленных ишемическими и воспалительными механизмами, и может способствовать сохранению когнитивных функций в послеоперационном периоде. Проведенные нами ранее клинические исследования также подтверждают эти данные [11].

Однако, на сегодняшний момент в мире существует дефицит фундаментальных исследований, посвященных нейропротекторным свойствам кетамина. Результаты таких экспериментальных работ не могут быть транслированы напрямую в практику. Тем не менее, неоспоримым преимуществом такого типа исследований является отсутствие рисков для пациента, и потому становится возможным моделирование любого набора негативных факторов, повреждающих головной мозг для того, чтобы выявить все возможности применения кетамина для нейропротекции.

Таким образом, **целью данного исследования** было выявить эффекты кетамина на клеточную модель нейроваскулярной единицы после воздействия гипоксии и моделированного действия системного воспаления.

Материалы и методы

С целью изучения влияния кетамина в условиях системного воспалительного ответа и гипоксии на головной мозг при кардиохирургических операциях было проведено экспериментальное исследование с использованием модели нейроваскулярной единицы.

На данном этапе исследования методом рандомизации с помощью генератора случайных чисел было отобрано по 3 образца сыворотки из коллекции биологического материала: из исследуемой группы 1 (пациенты, которым проводилась инфузия кетамина в на протяжении 16 часов после оперативного вмешательства в дозе 0,1 мг/кг), из исследуемой группы 2 (пациенты, которым проводилась инфузия кетамина на протяжении 16 часов после оперативного вмешательства в дозе 0,3 мг/кг) и из контрольной группы (пациенты, не получившие кетамин). Критерии включения: хирургическая коррекция дефекта межпредсердной или межжелудочковой перегородки в условиях искусственного кровообращения, возраст от 1 месяца до 7 лет, наличие информированного согласия, подписанного законным представителем ребенка. Критерии и исключения: экстренная операция, наличие анемии, гипотермический режим искусственного кровообращения, десатурация в периоперационном периоде, другие врожденные пороки сердца, заболевания центральной нервной системы, имплантированный электрокардиостимулятор, нарушения мозгового кровообращения в анамнезе или периоперационном периоде, острые инфекции, аутоиммунные и онкологические заболевания, хирургические осложнения после операции. Общее число пациентов, от которых методом рандомизации была набрана сыворотка, составило 85 человек. Возраст пациентов – от 1 мес. до 6,5 лет (13 [9–23] мес.), масса тела от 3,3 до 21,5 кг (8,7 [6,9–11,0] кг). Всем пациентам операции были проведены на базе ФГБНУ НИИ КПССЗ. Замороженная сыворотка была транспортирована с соблюдением температурной цепи в ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России. В лаборатории ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России была разработана модель повреждения головного мозга при кардиохирургических операциях на основе клеточной модели нейроваскулярной единицы, которая культивировалась в условиях, аналогичных интраоперационным. Для этой цели были приготовлены материалы нейроваскулярной единицы и подвергнуты инкубации с сывороткой пациентов контрольной и исследуемой групп посредством следующих этапов.

1. Получение первичных культур клеток головного мозга *in vitro*

Использовались первичные культуры клеток эндотелия, астроцитов и нейронов головного мозга, полученных из крыс линии Wistar. Животные содержались в клетках со свободным доступом к корму и воде. Температура поддерживалась постоянно – 21 ± 1 °C. Световой цикл составил 12 ч день/12 ч ночь. Исследования на животных проводились в соответствии с соблюдением принципов гуманно-

сти, изложенных в Директиве Европейского сообщества (2010/63/ЕС). Общее количество животных $n = 6$.

1.1. Выделение церебральных эндотелиоцитов проводилось по модифицированному протоколу Y. Liu et al., 2013. Выделение головного мозга с последующим удалением оболочек мозга и крупных церебральных сосудов осуществлялось путем роллинга на фильтровальной бумаге, с последующим отделением коры головного мозга. Оставшиеся крупные сосуды удаляли в холодном растворе Хенкса (ПанЭко, Россия). Кора мелко иссекалась до размеров 1 мм^3 с впоследствии центрифугировалась в 15 мл пробирке. Время центрифугирования при комнатной температуре – 3 минуты при 150g.

После удаления надосадочной жидкости добавляли к осадку в двукратном объеме 25% FBS (Fetal Bovine Serum, HyClone, South America) и проводили тритурирование. После тритурирования проводили центрифугирование гомогената при 600g в течение 10 минут.

После центрифугирования собирали нижний слой и помещали его чистую 15 мл пробирку. Трижды повторяли тритурирование и центрифугирование. Далее проводили обработку пеллета ферментами в двукратном объеме – 0,1% коллагеназа II (ПанЭко, Россия) в течение 30 минут при $+37^\circ\text{C}$. По окончании ферментации образцы подвергали ресуспензированию и центрифугированием при 150g в течение 5 минут.

Полученные фрагменты культивировали $+37^\circ\text{C}$, 5% CO_2 в культуральных флаконах с адгезивным покрытием (Gelatin Solution 0,1%. Biological Industries, США). Состав культуральной среды: DMEM (ПанЭко, Россия) + 20% FBS (ПанЭко, Россия), 3 мг/мл глюкозы (Sigma-Aldrich), 0,58 мг/мл глутамина (Sigma-Aldrich), 100 ЕД/мл пеницилина, 100 мг/мл стрептомицина (HyClone, South America).

Культуральную среду меняли каждые 72 часа. После достижения 90–95% конfluence культуральная среда удалялась. Клетки промывались трижды раствором Хенкса (ПанЭко, Россия), после чего проводили трипсинизацию культур клеток (0,25% трипсин и ЭДТА (ПанЭко, Россия), с последующим сбором клеток отмыванием.

1.2. Выделение и культивирование нейросфер. После декапитации животных производили забор головного мозга. Выделенный мозг переносился в ледяной раствор глюкозы в PBS. Выделяли гиппокампы, стенки боковых желудочков, которые иссекались до размеров 1 мм^3 . Выделенную ткань помещали в свежий раствор 2% глюкозы в PBS и после осаждения ткани удаляли супернатант.

Оставшуюся ткань ресуспензировали в 1 мл среды NeuroCult NS-A Proliferation (StemCell, USA). Проводили тритурацию до состояния однородной

суспензии и добавляли еще 1 мл свежей среды NeuroCult NS-A Proliferation. Через 3 минуты, после осаждения неразделенных кусочков ткани собирали супернатант и центрифугировали при 150g в течение 5 минут. Полученные клетки в количестве 1 млн клеток/мл высевали в культуральные флаконы. Через 24–48 часов наблюдали образование нейросфер.

1.3. Получение астроцитов и нейронов осуществляли из полученных нейросфер путем направленной дифференцировки в астроциты и нейроны. Дифференцировку нейросфер в астроциты проводили в среде Astrocyte Medium (ScienCell, США) следующего состава. Через 10 суток наблюдали образование монослоя астроцитов. Дифференцировку нейросфер в нейроны проводили в среде Neuronal Medium (ScienCell, США). Через 12–14 суток наблюдали образование нейронов.

1.4. Формирование модели НВЕ *in vitro*.

На дно лунок 96-луночного культурального планшета (Corning-Costar, США) помещали смесь эндотелиоцитов, астроцитов и нейронов. Смесь клеток культивировали в среде, состоящей из DMEM с 10% FBS, глутамином, смесью антибиотиков при 37°C с 5% CO_2 . После формирования клеточной модели НВЕ проводили основные эксперименты.

2. Формирование экспериментальных групп

В начале эксперимента проводилась инкубация клеток НВЕ с сывороткой, забранной у пациентов, включённым в исследование ранее согласно критериям включения и исключения, сразу же после завершения искусственного кровообращения на протяжении 30 минут, в условиях гипоксии (N_2 – 96%, O_2 – 4%) и нормотермии, на протяжении 30 минут. Это позволило смоделировать для НВЕ условия, подобные тем, которые возникают на этапе искусственного кровообращения при кардиохирургической операции в виде гипоксического повреждения и действия системного воспаления. После этого, в условиях нормального кислородного статуса (N_2 – 75%, O_2 – 20%, CO_2 – 5%) и нормотермии, клетки НВЕ культивировали в среде с добавлением 10% сыворотки, забранной у пациентов, в течение 1 часа согласно сформированным группам.

Таким образом, были сформированные экспериментальные группы:

1. Группа «Контроль» – клетки, культивированные с контрольной сывороткой.

2. Группа «Кетамин 0,1» – клетки, культивированные с сывороткой пациентов, которым проводилась инфузия кетамина 0,1 мг/кг/час.

3. Группа «Кетамин 0,3» – клетки, культивированные с сывороткой пациентов, которым проводилась инфузия кетамина 0,3 мг/кг/час.

Количество повторностей эксперимента – 10.

3. Иммуноцитохимические исследования

Для регистрации целевых молекул-маркеров использовали метод двойного непрямого иммуноцитохимического окрашивания согласно протоколу фирмы-изготовителя антител. Клетки фиксировали 4% раствором формальдегида в PBS в течение 15 минут. Пермеабелизацию проводили 0,25% раствором Triton X-100 в PBS в течение 5 мин при комнатной температуре. Блокирование неспецифического связывания проводили в 10% растворе BSA в PBS в течение 30 минут при 37 °С. Были использованы первичные антитела к GFAP (ab4648, Abcam), NeuN (ABN78, Merck Millipore), VWF (LS-B4034, LSBio), Claudin-5 (AF0130, Affinity Biosciences), ZO1 (AF5145, Affinity Biosciences), Interleukin-1 Receptor Type I (PAA066Ra01, Cloud-Clone Corp), Interleukin-6 Receptor (DF2530, Affinity Biosciences), TNF Receptor I (AF0282, Affinity Biosciences), TNF Receptor II (AF0364, Affinity Biosciences). Первичные антитела использовали в рабочем разведении 1:200. Время инкубации с первичными антителами составило 18 часов при 4 °С. Вторичные антитела, меченые FITC (SAA544Rb58, Cloud-Clone Corp.), использовали в разведении 1:400, время инкубации составляло 2 часа при 37 °С.

Микроскопию клеток осуществляли на флуоресцентном микроскопе ZOE (Bio-Rad, США). Выполняли подсчет интенсивности флуоресценции исследуемых маркеров с помощью программного обеспечения ImageJ.

Репрезентативные снимки иммуноцитохимического окрашивания на специфические маркеры нейронов (NeuN), астроцитов (GFAP) и эндотелиоцитов (VWF) представлены на рис. 1.

Графически дизайн исследования представлен на рис. 2.

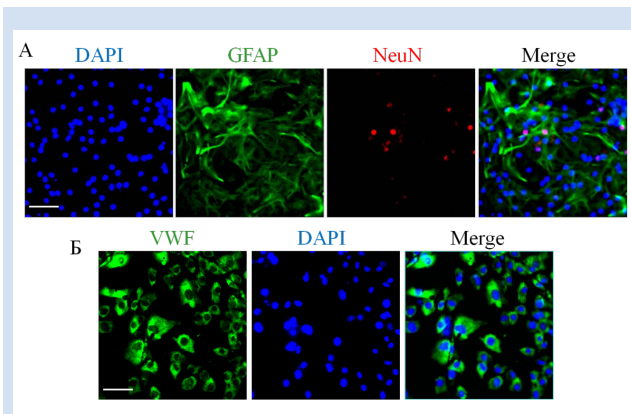


Рисунок 1. Репрезентативные снимки иммуноцитохимического окрашивания (А) экспрессия маркера астроцитов GFAP (зеленый) и маркера нейронов NeuN (красный), (Б) экспрессия маркера эндотелиоцитов VWF (зеленый). Ядра клеток окрашены DAPI (синий). Шкала 50 мкм

Figure 1. Representative images of immunocytochemical staining (A) expression of astrocyte marker GFAP (green) and neuron marker NeuN (red), (B) expression of endotheliocyte marker VWF (green). The cell nuclei are stained with DAPI (blue). The scale is 50 microns

4. Статистический анализ

Данные обрабатывали статистически с помощью программы BioStat Pro 5.9.8. Данные в тексте, таблицах и на рисунках представили в виде медианы (Me), верхнего (Q1) и нижнего (Q3) квартилей, так как большинство данных имело характер распределения, отличный от нормального (критерий Шапиро–Уилка, $p < 0,05$). Количественные переменные сравнивали с использованием одностроннего критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для выявления значимых отличий в нескольких независимых группах применяли критерий Краскела–Уоллеса. Для сравнения нескольких групп использовали поправку Бонферони. Влияние кетамина в сыворотке на НВЕ оценивали в двух исследуемых и одной контрольной группе, значимость различий составила 0,017.

Результаты

При анализе экспрессии белков плотных контактов было выявлено статистически значимое снижение экспрессии клаудина-5 при воздействии гипоксии на клетки НВЕ *in vitro*. Так, интенсивность флуоресценции клаудина-5 после воздействия гипоксии во всех экспериментальных группах оказалась ниже в 1,7–2,2 раза ($p = 0,0009$), чем в группах, культивируемых в условиях нормоксии (табл. 1). Культивирование клеток НВЕ в присутствии сыворотки, содержащей кетамин, не привело к статистически значимым изменениям уровней флуоресценции клаудина-5 ни в условиях нормоксии, ни в условиях гипоксии. Репрезентативные снимки иммуноокрашивания на клаудин-5 представлены на рис. 3.

Анализ экспрессии белка плотных контактов окклюдина-1 показал изменения, аналогичные таковым у клаудина-5. Интенсивность флуоресценции окклюдина-1 после воздействия гипоксии во всех



Рисунок 2. Дизайн исследования
Figure 2. Study design

экспериментальных группах оказалась ниже в 1,3–1,4 раза ($p = 0,0009$), чем в группах, культивируемых в условиях нормоксии (табл. 2). Воздействие кетамина на клетки НВЕ также не вызвало значимых изменений в экспрессии окклюдина-1, как в условиях нормоксии, так и в условиях гипоксии. Репрезентативные снимки иммуноокрашивания на окклюдин-1 представлены на рис. 4.

При исследовании экспрессии рецепторов интерлейкина-1 (ILR1) было выявлено статистически значимое воздействие кетамина в сыворотке на экспрессию ILR1 (табл. 3). Так, в условиях нормоксии интенсивность флуоресценции рецепторов снизилась

с 25,28 у.е. до 15,90 у.е. в группе с низкой концентрацией кетамина ($p = 0,0008$) и до 12,55 у.е. в группе с более высокой концентрацией кетамина ($p = 0,0008$).

После перенесенной гипоксии кетамин оказал аналогичное влияние на клетки НВЕ: интенсивность флуоресценции снизилась с 35,50 у.е. в контроле до 27,05 у.е. в группе с низкой концентрацией кетамина ($p = 0,0008$) и до 19,75 у.е. в группе с более высокой концентрацией кетамина ($p = 0,0008$). Репрезентативные снимки иммуноокрашивания на рецепторы интерлейкина-1 представлены на рис. 5.

Аналогичные изменения вызвало влияние гипоксии на экспрессию рецепторов интерлейкина-6

Таблица 1. Экспрессия клаудина-5, у.е.
Table 1. Claudin-5 expression, с.у.

	Контроль / Control	0,1 мг / 0.1 mg	0,3 мг / 0.3 mg	p
Нормоксия / Normoxia	13,09 [12,48–14,26]	11,76 [10,20–12,33]	12,47 [10,95–13,05]	$p = 0,1755$
Гипоксия / Hypoxia	5,82 [5,45–6,09]	6,02 [5,56–6,81]	5,69 [5,20–6,05]	$p = 0,6508$
	$p = 0,0009$	$p = 0,0009$	$p = 0,0009$	

Таблица 2. Экспрессия окклюдина-1, у.е.
Table 2. Occludin-1 expression, с.у.

	Контроль / Control	0,1 мг / 0.1 mg	0,3 мг / 0.3 mg	p
Нормоксия / Normoxia	26,82 [25,31–28,36]	26,55 [26,02–29,16]	27,18 [26,14–30,31]	$p = 0,8094$
Гипоксия / Hypoxia	20,15 [19,18–22,17]	18,35 [17,84–20,99]	19,22 [18,32–21,95]	$p = 0,4216$
	$p = 0,0030$	$p = 0,0009$	$p = 0,0009$	

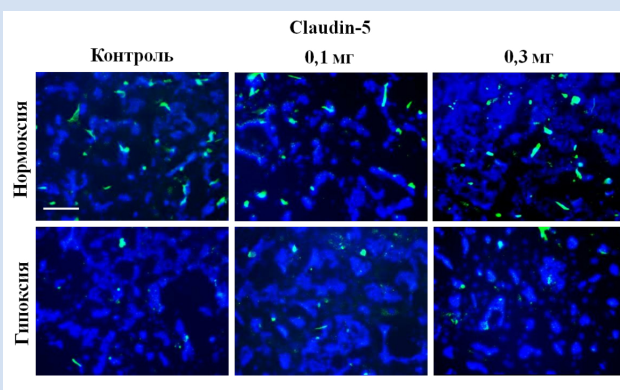


Рисунок 3. Репрезентативные снимки экспрессии клаудина-5 (зеленый). Ядра клеток окрашены DAPI (синий). Шкала 100 мкм

Figure 3. Representative images of claudin-5 expression (green). The cell nuclei are stained with DAPI (blue). The scale is 100 microns

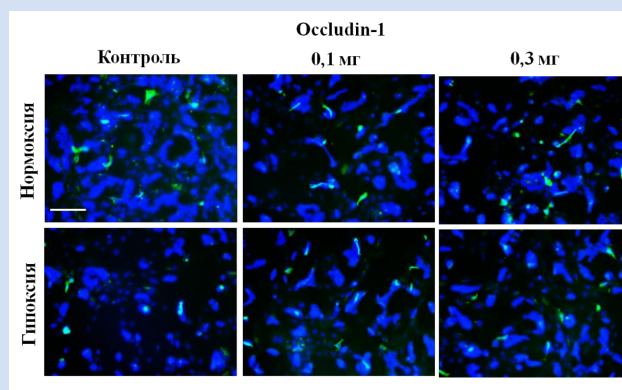


Рисунок 4. Репрезентативные снимки экспрессии окклюдина-1 (зеленый). Ядра клеток окрашены DAPI (синий). Шкала 100 мкм

Figure 4. Representative images of occludin-1 expression (green). The cell nuclei are stained with DAPI (blue). The scale is 100 microns

Таблица 3. Экспрессия рецепторов интерлейкина-1, у.е.
Table 3. ILR-1 expression, с.у.

	Контроль / Control	0,1 мг / 0.1 mg	0,3 мг / 0.3 mg	p
Нормоксия / Normoxia	25,28 [23,65–26,08]	15,90 [15,45–16,58]	12,55 [11,98–13,21]	$p_{1-P_2} = 0,0008$ $p_{1-P_3} = 0,0008$ $p_{2-P_3} = 0,0008$
Гипоксия / Hypoxia	35,50 [34,63–36,95]	27,05 [26,08–28,55]	19,75 [18,93–20,45]	$p_{1-P_2} = 0,0008$ $p_{1-P_3} = 0,0008$ $p_{2-P_3} = 0,0008$
	$p = 0,0004$	$p = 0,0004$	$p = 0,0004$	

(ILR6): в группе гипоксии интенсивность флуоресценции ILR6 оказалась в 1,7–2,3 раза выше, чем при нормоксии ($p = 0,0004$) (табл. 4). Однако влияние кетамина в сыворотке на экспрессию ILR6 оказалось более выраженным после перенесенной гипоксии. Так, в условиях нормоксии статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции ILR6 не наблюдалось. После перенесенной гипоксии интенсивность флуоресценции ILR6 снизилась с 25,0 у.е. в контроле до 18,85 у.е. в группе с низкой концентрацией кетамина ($p = 0,0004$) и до 15,1 у.е. в группе с более высокой концентрацией кетамина ($p = 0,0006$). Репрезентативные снимки иммуноокрашивания на рецепторы интерлейкина-6 представлены на рис. 6.

Обсуждение

Полученные результаты подтвердили данные клинических исследований, в том числе и нашего коллектива, об отсутствии его негативного влияния на компоненты нейроваскулярной единицы. Кроме того, выявлена роль кетамина в ограничении нейровоспаления, что выражалось в его способности к снижению экспрессии рецепторов интерлейкина. Вероятно, исследования по направлению лимитирования кетамином нейровоспаления и системного воспаления будут перспективными, учитывая выраженность этих процессов вследствие применения ИК при кардиохирургических операциях [12].

Важным аспектом данного исследования было

то, что оно проведено не на пациентах, а на клеточной модели. Такой тип исследований имеет ряд преимуществ [13–15]:

- Возможность проведения детального изучения молекулярных и клеточных механизмов действия препаратов;
- Высокая контролируемость условий эксперимента, что позволяет точно моделировать отдельные патологические факторы (например, гипоксию, воздействие системного воспаления);
- Отсутствие этических ограничений и опасности для пациента.

Однако, стоит отметить и ограничение исследования:

- Ограниченная воспроизводимость систем, отсутствие системной регуляции и межорганных взаимодействий;
- Неучет влияния системных факторов, таких как иммунный ответ, метаболизм и гемодинамика;
- Невозможность полностью моделировать клиническую картину оперативного вмешательства, что снижает переносимость трансляцию результатов на пациентов.

Все перечисленные недостатки необходимо учитывать и понимать, что полученные нами результаты не могут быть напрямую транслированы в практику, однако, они предоставляют дополнительное подтверждение нейропротекторных свойств кетамина и его способности к ограничению нейровоспаления. При этом, клинические исследования перечис-

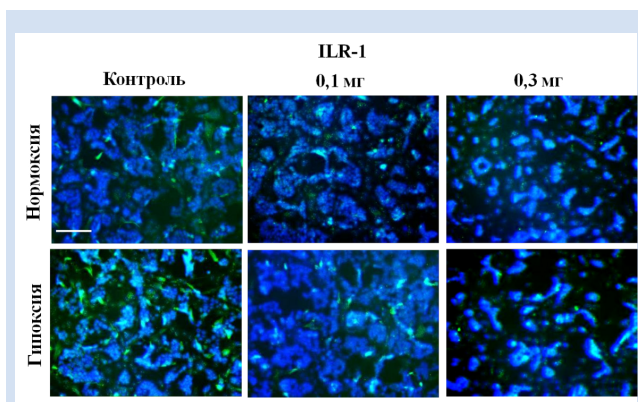


Рисунок 5. Репрезентативные снимки экспрессии рецепторов интерлейкина-1 (зеленый). Ядра клеток окрашены DAPI (синий). Шкала 100 мкм

Figure 5. Representative images of interleukin-1 receptor expression (green). The cell nuclei are stained with DAPI (blue). The scale is 100 microns

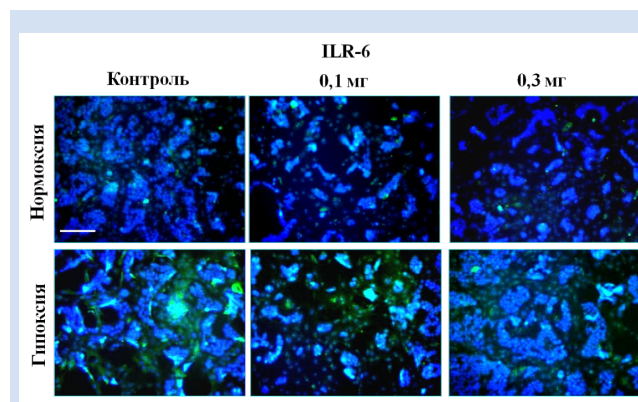


Рисунок 6. Репрезентативные снимки экспрессии рецепторов интерлейкина-6 (зеленый). Ядра клеток окрашены DAPI (синий). Шкала 100 мкм

Figure 6. Representative images of interleukin-6 receptor expression (green). The cell nuclei are stained with DAPI (blue). The scale is 100 microns

Таблица 4. Экспрессия рецепторов интерлейкина-6, у.е.

Table 4. ILR-6 expression, c.u.

	Контроль / Control	0,1 мг / 0.1 mg	0,3 мг / 0.3 mg	p
Нормоксия / Normoxia	10,43 [9,81–10,97]	9,95 [9,15–10,45]	9,40 [9,08–9,93]	$p = 0,0628$
Гипоксия / Hypoxia	25,05 [24,58–25,33]	18,85 [18,43–19,75]	15,1 [14,58–16,28]	$p_{1-2} = 0,0004$ $p_{1-3} = 0,0004$ $p_{2-3} = 0,0006$
	$p = 0,0004$	$p = 0,0004$	$p = 0,0004$	

ленных качеств кетамина, конечно, проводились и ранее. Несколько рандомизированных контролируемых исследований показали, что применение кетамина в периоперационном периоде у детей снижает проявления делирия и когнитивных нарушений. В исследовании Ashraf Arafat Abdelhalim от 2024 года, у детей после аденоидэктомии, было установлено, что введение кетамина в дозе 0,5 мг/кг в конце операции снижает риск развития ажитации в послеоперационном периоде наравне с введением фентанила в дозе 1 мкг/кг, при этом не происходило задержки восстановления сознания [16]. Аналогичные результаты при подобной операции получены и в другом исследовании [17]. При этом авторы отмечают, что эффективная нейропротекторная активность кетамина наблюдалась как при введении 0,25 мг/кг, так и 0,5 мг/кг без различий в эффектах между группами. Данные о нейропротекторном потенциале кетамина подтверждаются и в систематическом обзоре о влиянии различных видов анестезии на возникновение ажитации [18]. Тем не менее, несмотря на достаточное количество работ по влиянию кетамина на головной мозг пациентов детского возраста, отмечается явный недостаток таких работ на популяции кардиохирургических пациентов, что повышает актуальность проведенного нами исследования. Необходимы дополнительные крупные исследования, как клинические, так и экспериментальные, для

подтверждения эффективности и безопасности применения кетамина в этой области.

Заключение

Воздействие кетамина на клетки НВЕ в эксперименте *in vitro* не оказало значимого влияния на экспрессию белков плотных контактов в условиях нормоксии и гипоксии, однако привело к снижению экспрессии рецепторов интерлейкинов, которое было более выраженным после воздействия гипоксии на клетки НВЕ. Можно говорить о потенциале кетамина в качестве средства для лимитирования нейровоспаления, особенно в условиях эпизодов гипоксии, что является путём к нейропротекции при операциях с высоким уровнем системного воспаления и большим количеством негативных факторов для головного мозга.

Конфликт интересов

А.А. Ивкин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.Д. Хилажева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.И. Мосягина заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Михайлова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено на средства гранта Российского научного фонда № 23-75-01029, <https://rscf.ru/project/23-75-01029/>.

Информация об авторах

Ивкин Артём Александрович, кандидат медицинских наук заведующий лабораторией органопротекции у детей с врожденными пороками сердца отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-3899-1642

Хилажева Елена Дмитриевна, старший преподаватель кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, научный сотрудник научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9718-1260

Мосягина Ангелина Ивановна, очный аспирант федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-7344-7925

Михайлова Алёна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории органопротекции у детей с врожденными пороками сердца отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-0246-3466

Author Information Form

Ivkin Artem A., PhD, Head of the Laboratory of Organoprotection in Children with Congenital Heart Defects, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-3899-1642

Khilazheva Elena D., Senior Lecturer at the Department of Biological Chemistry with courses in Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Researcher at the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9718-1260

Mosyagina Angelina I., full-time postgraduate student at the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-7344-7925

Mikhailova Alyona A., Junior Researcher at the Laboratory of Organoprotection in Children with Congenital Heart Defects, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-0246-3466

Вклад авторов в статью

ИАА – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ХЕД – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

МАИ – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ММА – вклад в концепцию исследования, анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

Author Contribution Statement

IAA – contribution to the concept and design of the study, data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

HED – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAI – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

MAA – contribution to the concept of the study, data analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guenther U., Theuerkauf N., Frommann I., Brimmers K., Malik R., Stori S., Scheidemann M., et al. Predisposing and precipitating factors of delirium after cardiac surgery: a prospective observational cohort study. *Annals of Surgery*. 2013; 257 (6): 1160–1167. DOI: 10.1097/sla.0b013e318281b01c.
- Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 66 (2): 65–70. DOI: 10.1007/s11748-017-0870-1.
- Борисенко Д.В., Ивкин А.А., Шукевич Д.Л. Современные методы ограничения системного воспалительного ответа при коррекции врожденных пороков сердца у детей в условиях искусственного кровообращения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2021;10(2): . DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-2
- Ivkin, A.; Grigoriev, E.; Mikhailova, A. Impact of Intraoperative Blood Transfusion on Cerebral Injury in Pediatric Patients Undergoing Congenital Septal Heart Defect Surgery. *J. Clin. Med*. 2024, 13, 6050. DOI: 10.3390/jcm13206050
- Saylan S., Akbulut U.E. A comparison of ketamine-midazolam combination and propofol-fentanyl combination on procedure comfort and recovery process in pediatric colonoscopy procedures. *Pak J Med Sci*. 2021; 37(2): 483–488. DOI: 10.12669/pjms.37.2.2787
- Kim K.S., Jeon M.T., Kim E.S. et al. Activation of NMDA receptors in brain endothelial cells increases transcellular permeability. *Fluids Barriers CNS*. 2022. 19(1): 70. DOI: 10.1186/s12987-022-00364-6
- Zhao J, Zhang R, Wang W, Jiang S, Liang H, Guo C, Qi J, Zeng H, Song H. Low-dose ketamine inhibits neuronal apoptosis and neuroinflammation in PC12 cells via $\alpha 7nAChR$ mediated TLR4/MAPK/NF- κB signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2023 Apr;117:109880. doi: 10.1016/j.intimp.2023.109880
- Santos L, Dos Santos Petry F, Saibro-Girardi C, Hansen J, Martins D, Fröhlich N, Possa L, Mendes LFB, Farias HR, Silva AM, Deitos IG, Bittencourt RR, de Oliveira J, Gelain DP, Almeida RF, Moreira JCF. Neuroprotective Role of Ketamine in Reducing Neuroinflammation and Enhancing Neuroplasticity Against a Cortisol-Induced In vitro Stress Model. *Mol Neurobiol*. 2025 Oct;62(10):13012-13028. doi: 10.1007/s12035-025-05114-x.
- Li H, Hu W, Wu Z, Tian B, Ren Y, Zou X. Esketamine improves cognitive function in sepsis-associated encephalopathy by inhibiting microglia-mediated neuroinflammation. *Eur J Pharmacol*. 2024 Nov 15;983:177014. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.177014.
- Zhao J, Liu X, Chang D, Zhang X, Lian H, Du X, Gao L. Low-Dose Ketamine Improves LPS-Induced Depression-like Behavior in Rats by Activating Cholinergic Anti-inflammatory Pathways. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Mar 4;11(5):752-762. doi: 10.1021/acscchemneuro.9b00669.
- Ивкин А.А., Григорьев Е.В., Балахнин Д.Г., Михайлова А.А. Применение послеоперационной инфузии кетамина с целью церебропротекции у детей в кардиохирургии. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2024;13(3S): 98-109. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3S-98-109
- Maisat W, Yuki K. Narrative review of systemic inflammatory response mechanisms in cardiac surgery and immunomodulatory role of anesthetic agents. *Ann Card Anaesth*. 2023 Apr-Jun;26(2):133-142. doi: 10.4103/aca.aca_147_22.
- Cenini G., Hebisch M., Iefremova V., Flitsch L.J., Breitkreuz Y., Tanzi R.E., Kim D.Y., Peitz M., Brüstle O. Dissecting Alzheimer's disease pathogenesis in human 2D and 3D models. *Mol Cell Neurosci*. 2021; 110: 103568. . DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103568
- Wang H., Yang H., Shi Y., Xiao Y., Yin Y., Jiang B., Ren H., Chen W., Xue Q., Xu X. Reconstituting neurovascular unit with primary neural stem cells and brain microvascular endothelial cells in three-dimensional matrix. *Brain Pathol*. 2021; 31 (5): e12940. DOI: 10.1111/bpa.12940
- Sokolova V., Nzou G., Meer S.B. Van Der, Ruks T., Heggen M., Loza K., Hagemann N., Murke F., Giebel B., Hermann D.M., Atala A.J., Epple M. Acta Biomaterialia Ultrasmall gold nanoparticles (2 nm) can penetrate and enter cell nuclei in an in vitro 3D brain spheroid model. *Acta Biomater*. 2020; 111: 349-362. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.04.023
- Abdelhalim AA, Alarfaj AM. The effect of ketamine versus fentanyl on the incidence of emergence agitation after sevoflurane anesthesia in pediatric patients undergoing tonsillectomy with or without adenoidectomy. *Saudi J Anaesth*. 2013 Oct;7(4):392-8. DOI: 10.4103/1658-354X.121047.
- Lee YS, Kim WY, Choi JH, Son JH, Kim JH, Park YC. The effect of ketamine on the incidence of emergence agitation in children undergoing tonsillectomy and adenoidectomy under sevoflurane general anesthesia. *Korean J Anesthesiol*. 2010 May;58(5):440-5. DOI: 10.4097/kjae.2010.58.5.440.
- Costi D, Cyna AM, Ahmed S, Stephens K, Strickland P, Ellwood J, Larsson JN, Chooi C, Burgoyne LL, Middleton P. Effects of sevoflurane versus other general anaesthesia on emergence agitation in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Sep 12;2014(9):CD007084. DOI: 10.1002/14651858.CD007084.pub2

REFERENCES

- Guenther U., Theuerkauf N., Frommann I., Brimmers K., Malik R., Stori S., Scheidemann M., et al. Predisposing and precipitating factors of delirium after cardiac surgery: a prospective observational cohort study. *Annals of Surgery*. 2013; 257 (6): 1160–1167. DOI: 10.1097/sla.0b013e318281b01c.
- Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 66 (2): 65–70. DOI: 10.1007/s11748-017-0870-1.
- Borisenko D.V., Ivkin A.A., Shukevich D.L. Treatment of systemic inflammatory response syndrome following on-pump pediatric congenital heart surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(2): 113-124. (In Russ.) DOI: 10.17802/2306-1278-2021-10-2-113-124
- Ivkin, A.; Grigoriev, E.; Mikhailova, A. Impact of Intraoperative Blood Transfusion on Cerebral Injury in Pediatric Patients Undergoing Congenital Septal Heart Defect Surgery. *J. Clin. Med*. 2024, 13, 6050. DOI: 10.3390/jcm13206050
- Saylan S., Akbulut U.E. A comparison of ketamine-midazolam combination and propofol-fentanyl combination on procedure comfort and recovery process in pediatric colonoscopy procedures. *Pak J Med Sci*. 2021; 37(2): 483–488. DOI: 10.12669/pjms.37.2.2787
- Kim K.S., Jeon M.T., Kim E.S. et al. Activation of NMDA receptors in brain endothelial cells increases transcellular permeability. *Fluids Barriers CNS*. 2022. 19(1): 70. DOI: 10.1186/s12987-022-00364-6
- Zhao J, Zhang R, Wang W, Jiang S, Liang H, Guo C, Qi J, Zeng H, Song H. Low-dose ketamine inhibits neuronal apoptosis and neuroinflammation in PC12 cells via $\alpha 7$ nAChR mediated TLR4/MAPK/NF- κ B signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2023 Apr;117:109880. doi: 10.1016/j.intimp.2023.109880
- Santos L, Dos Santos Petry F, Saibro-Girardi C, Hansen J, Martins D, Fröhlich N, Possa L, Mendes LFB, Farias HR, Silva AM, Deitos IG, Bittencourt RR, de Oliveira J, Gelain DP, Almeida RF, Moreira JCF. Neuroprotective Role of Ketamine in Reducing Neuroinflammation and Enhancing Neuroplasticity Against a Cortisol-Induced In vitro Stress Model. *Mol Neurobiol*. 2025 Oct;62(10):13012-13028. doi: 10.1007/s12035-025-05114-x.
- Li H, Hu W, Wu Z, Tian B, Ren Y, Zou X. Esketamine improves cognitive function in sepsis-associated encephalopathy by inhibiting microglia-mediated neuroinflammation. *Eur J Pharmacol*. 2024 Nov 15;983:177014. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.177014.
- Zhao J, Liu X, Chang D, Zhang X, Lian H, Du X, Gao L. Low-Dose Ketamine Improves LPS-Induced Depression-like Behavior in Rats by Activating Cholinergic Anti-inflammatory Pathways. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Mar 4;11(5):752-762. doi: 10.1021/acscchemneuro.9b00669.
- Ivkin A.A., Grigoriev E.V., Balakhnin D.G., Mikhailova A.A. Use of postoperative ketamine infusion for cerebral protection in children in cardiac surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(3S):98-109. (In Russ.) DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-3S-98-109
- Maisat W, Yuki K. Narrative review of systemic inflammatory response mechanisms in cardiac surgery and immunomodulatory role of anesthetic agents. *Ann Card Anaesth*. 2023 Apr-Jun;26(2):133-142. doi: 10.4103/aca.aca_147_22.
- Cenini G., Hebisch M., Iefremova V., Flitsch L.J., Breitzkreuz Y., Tanzi R.E., Kim D.Y., Peitz M., Brückstle O. Dissecting Alzheimer's disease pathogenesis in human 2D and 3D models. *Mol Cell Neurosci*. 2021; 110: 103568. . DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103568
- Wang H., Yang H., Shi Y., Xiao Y., Yin Y., Jiang B., Ren H., Chen W., Xue Q., Xu X. Reconstituting neurovascular unit with primary neural stem cells and brain microvascular endothelial cells in three-dimensional matrix. *Brain Pathol*. 2021; 31 (5): e12940. DOI: 10.1111/bpa.12940
- Sokolova V., Nzou G., Meer S.B. Van Der, Ruks T., Heggen M., Loza K., Hagemann N., Murke F., Giebel B., Hermann D.M., Atala A.J., Epple M. Acta Biomaterialia Ultrasmall gold nanoparticles (2 nm) can penetrate and enter cell nuclei in an in vitro 3D brain spheroid model. *Acta Biomater*. 2020; 111: 349-362. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.04.023
- Abdelhalim AA, Alarfaj AM. The effect of ketamine versus fentanyl on the incidence of emergence agitation after sevoflurane anesthesia in pediatric patients undergoing tonsillectomy with or without adenoidectomy. *Saudi J Anaesth*. 2013 Oct;7(4):392-8. DOI: 10.4103/1658-354X.121047.
- Lee YS, Kim WY, Choi JH, Son JH, Kim JH, Park YC. The effect of ketamine on the incidence of emergence agitation in children undergoing tonsillectomy and adenoidectomy under sevoflurane general anesthesia. *Korean J Anesthesiol*. 2010 May;58(5):440-5. DOI: 10.4097/kjae.2010.58.5.440.
- Costi D, Cyna AM, Ahmed S, Stephens K, Strickland P, Ellwood J, Larsson JN, Chooi C, Burgoyne LL, Middleton P. Effects of sevoflurane versus other general anaesthesia on emergence agitation in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Sep 12;2014(9):CD007084. DOI: 10.1002/14651858.CD007084.pub2

Для цитирования: Ивкин А.А., Хилажева Е.Д., Мосягина А.И., Михайлова А.А. Исследование влияния кетамина на клеточную модель нейроваскулярной единицы и его нейропротекторной роли у детей при кардиохирургических операциях. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2025;14(6S): 126-135. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-6S-126-135

To cite: Ivkin A.A., Khilazheva E.D., Mosyagina A.I., Mikhailova A.A. Investigation of ketamine effects on a cellular model of the neurovascular unit and its neuroprotective role in children undergoing cardiac surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2025;14(6S): 126-135. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-6S-126-135