

FAUT-IL ENCORE FAIRE DES ANESTHÉSIES GÉNÉRALES CHEZ LE NOUVEAU-NÉ ?

Vincent Laudenbach (1, 2), Bérengère Bourret (3), Pascal Delmon (3), Stéphane Marret (1, 2)

(1) Service de Pédiatrie néonatale et Réanimation, Centre de dépistage des troubles des apprentissages, CHU Charles Nicolle, 1, rue de Germont, 76031 Rouen Cedex

(2) Laboratoire EA 4309 NeoVasc « Endothélium microvasculaire et lésions cérébrales néonatales », Institut Hospitalo-Universitaire Normandie-Rouen, IFRMP 23, UFR Médecine-Pharmacie, 22, boulevard Gambetta, 76183 Rouen Cedex

(3) Département d'Anesthésie-Réanimation, CHU Charles Nicolle, 1, rue de Germont, 76031 Rouen Cedex. E-mail : vincent.laudenbach@chu-rouen.fr

INTRODUCTION

Les molécules employées lors d'une sédation en réanimation ou d'une anesthésie générale (exception faite des curares) visent classiquement à induire les composantes suivantes : sédation, amnésie, anxiolyse, hypnose, analgésie et contrôle de la réponse neurovégétative aux stimuli douloureux. Par définition, cela ne peut être obtenu qu'à l'aide de drogues interférant avec le fonctionnement normal du SNC, notamment en modulant la transmission synaptique et l'activité électrique neuronale. Plusieurs dizaines d'années se sont écoulées depuis l'obtention des premières évidences expérimentales concernant les mécanismes d'action des agents anesthésiques généraux [1]. Pendant longtemps, il fut couramment admis que l'effet de ces agents était réversible, n'entraînant aucune modification durable des grandes fonctions cérébrales. Tout au plus évoquait-on une participation de ces agents dans l'apparition d'états confusionnels postopératoires transitoires, plus fréquents chez le sujet âgé [2]. La persistance de dysfonctions cognitives à distance d'une intervention était néanmoins identifiée comme fréquente chez les patients, surtout âgés, ayant eu une chirurgie cardiaque (donc divers facteurs de risque d'altérations cognitives en dehors de l'anesthésie) [3-6]. Plus récemment, certains travaux conduits notamment par le groupe européen ISPOCD (International Study of Postoperative Cognitive Dysfunction) ont révélé l'existence de dysfonctions cognitives

postopératoires prolongées chez près de 10 % des patients de plus de 60 ans opérés d'une chirurgie majeure non cardiaque [7]. Cela suggérait un effet délétère durable de la procédure anesthésie-chirurgie sur les fonctions cérébrales supérieures. Toutefois, les travaux cités ci-dessus n'ont pas rattaché l'apparition d'une dysfonction cognitive postopératoire à l'une ou l'autre modalité d'anesthésie, ce qui plaide pour une implication d'autres facteurs que les agents anesthésiques (troubles métaboliques, facteurs divers liés au terrain ou à l'intervention, dont les variations hémodynamiques liées à la circulation extracorporelle) [7]. Ce dernier point fait néanmoins l'objet d'un débat, des travaux plus récents ayant observé un déclin des fonctions cognitives indépendamment du type de chirurgie (hors chirurgie cardiaque) ou des comorbidités [8].

Depuis une vingtaine d'années, des résultats obtenus lors d'expériences menées chez différents rongeurs, mais aussi chez le primate non humain, ont démontré la possibilité d'une majoration, en cas d'exposition à différents agents anesthésiques, des phénomènes de mort neuronale (apoptose, essentiellement) qui accompagnent physiologiquement le développement normal du cerveau [9-12]. Cette mort neuronale ne se limite pas à des observations au niveau cellulaire mais peut s'accompagner de troubles des performances comportementales chez l'animal parvenu à l'âge adulte. Ces résultats ont suscité une certaine émotion et ont amené de nombreux auteurs à soulever la question de l'innocuité des drogues de l'anesthésie générale sur le cerveau en développement (obstétrique, anesthésie-réanimation du nouveau-né ou du petit enfant [10, 11]), sans toutefois qu'aucun ne remette en question la justification éthique, lorsqu'une procédure douloureuse doit être menée chez un petit enfant, de soulager douleur et inconfort par une anesthésie de qualité. Il est en effet à la fois inquiétant que les outils de la recherche expérimentale moderne (biologie cellulaire et moléculaire, électrophysiologie, études comportementales perfectionnées) révèlent ce type de résultats de façon robuste et reproductible, d'une part, mais également un peu surprenant qu'un effet neurotoxique de l'anesthésie générale chez les nouveau-nés ou les petits nourrissons (endormis par dizaine de milliers chaque année dans le monde) n'ait pas sauté aux yeux des cliniciens, d'autre part. Malheureusement, les rares données cliniques disponibles sont entachées de limites méthodologiques et si elles permettent a priori d'exclure un effet important sur la motricité ou les fonctions sensorielles, il est un peu tôt pour exclure totalement un effet délétère de l'anesthésie sur le développement cognitif fin des enfants. L'analyse de ce dernier est difficile, nécessite un suivi de 5 à 8 ans (scolarisation) pour permettre des conclusions solides et nécessite le contrôle de nombreux biais (terme et circonstances de naissance, milieu social-éducatif, absence de pathologies intercurrentes, entre autres).

Pour autant, l'importance du corpus de données chez de nombreuses espèces animales rend légitimes un certain nombre de questions. Quelle stratégie de recherche privilégier afin de les confirmer ou de les infirmer chez l'enfant ? Les données actuelles doivent-elles amener à privilégier une technique d'anesthésie locorégionale lorsque cela est possible ou à retarder une procédure nécessitant une anesthésie générale à un âge ultérieur ? Existe-t-il des agents à privilégier ou à éviter ? Les enfants ayant eu une anesthésie générale au cours de la période néonatale ou de la petite enfance doivent-ils bénéficier d'un suivi spécifique ? Existe-t-il des populations plus particulièrement à risque ?

Nous allons tenter d'apporter à ces questions des réponses aussi pragmatiques que possible sur base de la littérature disponible. Le cas particulier des anesthésiques locaux, dont la toxicité neurologique locale ou systémique dans certaines circonstances particulières est bien documentée, ne sera pas abordé.

1. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES

1.2. DÉVELOPPEMENT NORMAL DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL HUMAIN (SNC) (SOURCE: WWW.EMBRYOLOGY.CH, ACCÈS LE 17/12/2009)

Les principales étapes du développement cérébral sont :

- La formation du tube neural du 19^{ème} au 32^{ème} jour de la grossesse humaine.
- La prolifération puis la migration des différentes populations cellulaires neurales, permettant notamment la mise en place de l'architecture du cortex majoritairement entre la 14^{ème} et la 24^{ème} semaine de la grossesse humaine, s'achevant finalement vers la 40^{ème} semaine.
- La giration (développement des circonvolutions corticales).
- La croissance axonale et des neurites.
- La synaptogénèse et les processus de stabilisation synaptique (élimination de synapses redondantes, initialement produites en excès, en fonction du degré de spécialisation acquises par les différentes régions des systèmes nerveux central et périphérique), ce dernier processus étant maximal du 6^{ème} mois de la grossesse au 3^{ème} mois postnatal, demeurant intense jusque vers 2 ans mais ne s'interrompant finalement jamais puisque participant notamment à tout processus d'apprentissage, quel que soit l'âge de l'individu.

Les neurotransmetteurs et leurs récepteurs apparaissent tôt au cours du développement, avant l'apparition des synapses. Au cours des périodes de synaptogénèse intense, les neurones sont extrêmement sensibles aux dysfonctionnements synaptiques.

La mort cellulaire programmée (apoptose, classiquement opposée à la nécrose bien que les deux puissent coexister au sein d'un même tissu et même d'une même cellule) est un processus participant au développement normal de l'organisme en général, mais également aux processus de vieillissement et à de nombreux processus pathologiques dans lesquels elle peut-être excessive (pathologies dégénératives ou infarctus tissulaires, par exemple) ou déficiente (cancers). Elle est notamment impliquée dans tous les processus de cavitation des organes ou d'individualisation de structures fines (digitation, par exemple). Au niveau cérébral, entre 30 % et 50 % des neurones produits au niveau des zones germinatives sont ainsi éliminés entre le dernier trimestre de la grossesse humaine et les 3 premiers mois de vie de l'enfant. L'apoptose est un processus complexe, nécessitant l'activation de gènes et une synthèse protéique de novo (pour revues, voir [13, 14]). Parmi les principaux acteurs enzymatiques impliqués, il faut citer les Caspases, famille de protéases dont il existe actuellement au moins 15 membres connus, répartis en une voie dite « extrinsèque », activée, par exemple, par le TNF α ou Fas ligand (caspase 8) et une voie « intrinsèque », impliquant la mitochondrie et la libération de cytochrome c (caspase 9). Parmi les multiples éléments régulateurs des voies de l'apoptose, citons la protéine p53, proapoptotique ou les protéines Bcl2 et Bcl-X_L, antiapoptotiques.

1.2. CHEZ LES RONGEURS

Chez la souris (*Mus Musculus*) et le rat (*Rattus norvegicus*), la gestation est, respectivement, de 19 ± 1 jours et de 22 ± 1 jours, le développement du néocortex se poursuivant jusque vers 10 jours postnatal, âge auquel on peut le comparer à celui d'un nouveau-né humain à terme. Il est possible de reproduire l'exposition fœtale à des agents anesthésiques les administrant à des rongeurs (souris, rats, hamsters) en période de gestation ou en période postnatale. Dans ces espèces, la neuritogénèse et la synaptogénèse ont lieu après la naissance (chez le rat, du premier au quatorzième jour de vie) alors que, chez l'humain, elles débutent en période anténatale dès le sixième mois de grossesse et se poursuivent pendant plusieurs années [15]. Cette particularité des rongeurs simplifie les protocoles expérimentaux puisqu'il est possible d'appréhender, chez des rongeurs nouveau-nés, des phénomènes susceptibles de se dérouler pendant le troisième trimestre de la grossesse chez l'humain.

2. NEUROTRANSMISSION, MÉCANISMES D'ACTION ET MÉCANISMES NEUROPROTECTEURS DES AGENTS ANESTHÉSQUES GÉNÉRAUX EN SITUATION PATHOLOGIQUE

2.1. PRINCIPAUX NEUROTRANSMETTEURS : GLUTAMATE, GABA

Le principal neurotransmetteur exciteur du SNC adulte est le glutamate. Il agit via différentes familles de récepteurs, parmi lesquelles le récepteur NMDA (sensible au N-Méthyl-D-Aspartate et couplé à un canal ionique fortement perméable à l'ion Ca^{++}) qui est impliqué non seulement dans la transmission synaptique mais aussi dans des phénomènes de plasticité cérébrale et de développement pré- et postnatal du SNC. Le système du GABA (acide gamma-hydroxy-butyrique) exerce, quant à lui, une activité inhibitrice sur les neurones, notamment par l'intermédiaire d'un autre groupe de récepteurs couplés à des canaux ioniques perméables, eux, au chlore (récepteurs GABA-A). L'activation de ces récepteurs entraîne un influx d'ion Cl^- , à l'origine d'une hyperpolarisation et ainsi d'une inhibition de l'activité électrique post-synaptique. Au niveau cortical, les neurones GABA-ergiques sont des interneurons modulant l'activité des neurones excitateurs, ce qui permet notamment d'éviter l'apparition de décharges épileptiformes. Chez l'adulte, 70 % des neurones du SNC expriment des récepteurs GABA et sont donc sensibles à cet agent inhibiteur. Comme on va le voir plus loin, la stimulation excessive des récepteurs GABA-A dans un cerveau en développement peut être responsable d'une neuroapoptose diffuse. Un juste équilibre entre les neurones excitateurs et inhibiteurs est nécessaire non seulement à la survie neuronale mais aussi à la maturation et à la fonctionnalité cérébrales.

Un élément particulier à la période néonatale doit être connu car établi par une accumulation croissante de preuves : au cours de cette période, du fait d'une inversion des gradients d'ion Cl^- de part et d'autre de la membrane plasmique, la conductance au Cl^- est modifiée et les récepteurs GABA-A ont un comportement « exciteur » (inducteur de dépolarisation) sur le neurone [16, 17]. De fait, chez le raton nouveau-né, les neurones sensibles au GABA semblent plus nombreux que ceux sensibles au glutamate, de même que les synapses GABA-ergiques sont plus nombreuses que les synapses glutamatergiques au niveau du cortex et de l'hippocampe [18]. Toutefois, la transposition de cette notion selon laquelle

les récepteurs-cibles des agents anesthésiques auraient un tel comportement « paradoxal » chez le nouveau-né humain n'est pas établie. En revanche, l'action des agents anesthésiques étant connue pour s'exercer à tous les niveaux du névraxe (cortex, thalamus, tronc cérébral, moelle, ces derniers étant matures plus tôt que le cortex au cours du développement), il serait intéressant de déterminer la contribution respective des effets corticaux et sous-corticaux des agents anesthésiques à l'état clinique d'anesthésie générale chez le nouveau-né [19, 20].

2.2. ACTION DES AGENTS ANESTHÉSQUES

Schématiquement, en dehors des opioïdes naturels et de synthèse, essentiellement actifs via les récepteurs des opioïdes endogènes μ et κ , les agents anesthésiques couramment utilisés agissent par deux mécanismes principaux :

- Un renforcement de l'inhibition synaptique par une activation des récepteurs GABA-A (benzodiazépines, barbituriques, propofol, étomidate, anesthésiques volatils halogénés).
- Un blocage de l'activité excitatrice des récepteurs glutamatergiques de type NMDA (kétamine, protoxyde d'azote (N_2O), xénon) [21].

Ces modes d'action ne sont néanmoins pas aussi simples puisque, par exemple, une exposition de 2 heures du souriceau adulte à l'isoflurane (agoniste GABA) entraîne une surexpression de la sous-unité NR2B NMDA, modifiant ainsi le comportement des récepteurs de cette famille et les conséquences sur le comportement de l'animal (réversion des altérations cognitives) [22]. D'autre part, d'autres systèmes neuromodulateurs sont susceptibles d'être impliqués (cholinergique, sérotoninergique, récepteurs des neurokinines, récepteurs du glutamate AMPA-kainate ou métabotropiques et du GABA (GABA_B, métabotropique...)).

2.3. ACTIVATION PHYSIOLOGIQUE ET PATHOLOGIQUE DES SYSTÈMES DE NEUROTRANSMISSION

On peut dire que le système glutamatergique exerce des fonctions duales. D'une part, une augmentation majeure des concentrations de glutamate synaptique et extra-synaptique, observée par exemple à la suite d'une injection intracérébrale ou d'une dépolarisation post-anoxique, entraîne par l'intermédiaire de l'hyperactivation des récepteurs (NMDA, notamment) un ensemble de réactions intracellulaires regroupées sous le vocable de cascade excitotoxique. Cette cascade comporte une activation anormale de systèmes enzymatiques (protéases, lipases, NO synthases, caspases) à l'origine d'une peroxydation des lipides membranaires, d'un dysfonctionnement mitochondrial et d'une altération de l'ADN nucléaire, aboutissant in fine à la mort neuronale immédiate (classiquement désignée sous le terme de nécrose) et/ou retardée (apoptose) [23, 24]. Dans ce contexte, un antagoniste NMDA tel que le MK-801, bloqueur non compétitif du canal calcique au mode d'action proche de celui de la kétamine, peut limiter l'importance de la mort neuronale en atténuant l'influx calcique vers le cytosol [25]. Il en va d'ailleurs de même avec différents agents anesthésiques généraux, actifs via les récepteurs NMDA (antagonistes, tels que kétamine, Xénon) ou GABA (agonistes tels que isoflurane ou sevoflurane) et qui exercent un effet neuroprotecteur en cas d'agression cérébrale, souvent dans le cadre de protocoles de pré conditionnement (exposition préalable), in vitro [26, 27] ou in vivo [28-33]. Selon les protocoles, cet effet protecteur peut toutefois s'avérer mineur [34] ou épuisable avec le temps [35, 36].

En revanche, un blocage, toujours par le MK-801, des récepteurs glutamatergiques NMDA au cours du développement normal (c'est-à-dire en dehors de toute stimulation excessive des récepteurs au préalable par un processus lésionnel) conduit également à des phénomènes de mort neuronale [37-40]. Ces derniers résultats confirment de la nécessité d'un tonus glutamatergique basal pour le maintien du métabolisme et de la survie des populations cellulaires neurales.

3. TOXICITÉ DES AGENTS ANESTHÉSIOLOGIQUES CHEZ L'ANIMAL

Plusieurs excellentes revues en langue anglaise compilent les résultats expérimentaux et cliniques disponibles concernant la possible toxicité des agents anesthésiques généraux sur le SNC en développement [9-12]. La question de l'influence d'agents anesthésiques sur le développement du SNC a été historiquement envisagée sous deux angles : l'étude des conséquences d'une anesthésie générale sur le fœtus chez la femme enceinte (anesthésie éventuellement nécessaire pour chirurgie non obstétricale) et celle des répercussions fœtales de l'alcoolisation maternelle. Dans un second temps sont venues s'ajouter des interrogations issues d'expériences menées chez l'animal à un stade de développement postnatal équivalent à celui d'un nouveau-né humain prématuré ou à terme. Il est toutefois intéressant de noter que, dès 1991, Levin et al attirait l'attention sur le fait qu'une exposition chronique à l'halothane pouvait entraîner diverses altérations, sur cerveau sain ou en période post-lésionnelle, chez l'animal en développement mais aussi chez l'adulte [41]. Ils observaient notamment des altérations de la croissance axonale, de la myélinisation, de la synaptogénèse, de la croissance dendritique, des altérations des organelles cellulaires, en particulier au niveau de l'hippocampe [41]. Ces anomalies s'accompagnaient de troubles cognitifs (apprentissage, activité exploratoire) [41]. Toutefois, la durée importante d'exposition à l'halothane dans ces expériences étant considérée comme ne correspondant pas à une situation clinique, ces données n'ont eu que peu d'impact à l'époque.

3.1. LE RISQUE TÉRATOLOGIQUE

Il est considéré comme maximal lorsque l'exposition à une drogue a lieu entre 13 et 55 jours de gestation, période de l'embryogénèse qui correspond à l'individualisation de l'ébauche des différents organes. Sur le plan expérimental, une administration continue, prolongée (de 24 heures à 7 jours) et à forte concentration (supérieure à 50 %) de protoxyde d'azote (qui interfère avec le métabolisme des acides nucléiques) peut entraîner des morts in utero et des malformations du squelette chez le rat [42]. Ces conditions d'administration ne sont pas celles employées en conditions cliniques. Il n'a pas été rapporté de malformations du SNC. Il est intéressant de noter que, dans des conditions d'administration similaires, le Xénon n'a pas cet effet tératogène [42]. Ces résultats sont rassurants quant à une tératogénicité éventuelle d'une procédure d'anesthésie, sous réserve d'éviter, autant que possible, les premières semaines de la grossesse.

3.2. UN ANESTHÉSIOLOGIQUE RÉPANDU ET TOXIQUE POUR LE CERVEAU FŒTAL : L'ALCOOL

L'éthanol est une des substances toxiques les plus communes auxquelles le fœtus humain puisse être exposé. L'exposition fœtale à l'alcool est la première cause de retard mental d'origine non génétique en France [43]. L'exposition à

l'alcool au cours du développement est susceptible d'induire divers troubles, regroupés en deux entités cliniques principales, le syndrome d'alcoolisme fœtal (SAF, comportant des éléments dysmorphiques majeurs mais diagnostiqué chez seulement 10 % des enfants exposés) et les troubles neuro-développementaux liés à l'alcool (Alcohol Related Neurodevelopmental Disorders, ARND). Aucun seuil toxique minimal n'a pu être identifié, ce qui doit inciter à des recommandations d'abstinence totale dès la période de conception. L'alcool exerce, lors d'une exposition aiguë et en l'absence d'autre stress, une influence inhibitrice sur l'activité des récepteurs de type NMDA [44], et activatrice sur celle des GABA-A [45]. L'administration d'éthanol ($2,5 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) à un raton âgé de 7 jours entraîne une majoration significative de cette apoptose neuronale, dans une proportion variable selon les régions analysées (par exemple, $18,33 \pm 2,72 \%$ des cellules versus $0,3 \pm 0,05 \%$ en conditions contrôles au niveau du thalamus) [46]. Cette augmentation de l'apoptose neuronale dans le cerveau en développement est corrélée avec l'apparition de modifications comportementales à long terme [47].

3.3. LES ANESTHÉSIIQUES ANTAGONISTES NMDA

Les deux principaux antagonistes NMDA utilisés en anesthésie et en réanimation sont la kétamine et le protoxyde d'azote (N_2O). Plus récemment, l'intérêt pour le xénon a été ravivé (antagoniste du site glycine de la sous-unité NR1 du récepteur NMDA), notamment en raison de sa pharmacocinétique extrêmement rapide et son excellente tolérance cardiorespiratoire. Toutefois, le coût très élevé de ce gaz rare, imposant l'utilisation d'un dispositif spécifique, demeure une limite à une utilisation à large échelle. La kétamine induit des phénomènes d'apoptose neuronale diffuse lorsqu'elle est utilisée chez des jeunes ratons (augmentation du nombre de neurones en dégénérescence d'un facteur 3,4 à 34 fois par comparaison au contrôle après administration de plusieurs injections consécutives de 20 mg.kg^{-1} par voie intrapéritonéale à 7 jours postnatal) [37, 48]. Des doses plus faibles (injection unique de 20 à 75 mg.kg^{-1} ou injections répétées de 10 mg.kg^{-1}) n'ont pas d'effet détectable sur la dégénérescence neuronale in vivo [48, 49]. Des études in vitro sur des neurones GABA-ergiques immatures de rat âgé de sept jours ont montré qu'il existe une concentration et une durée d'exposition ($5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ pendant quatre heures) en-dessous de laquelle l'exposition à la kétamine n'entraîne pas de mort neuronale mais des altérations du développement dendritique (diminution de la longueur totale dendritique et du nombre de divisions dendritiques) [50]. Ces concentrations seraient équivalentes à celles obtenues au niveau plasmatique dans les études in vivo chez l'animal mais aussi en clinique humaine [49, 51]. D'autre part, de très faibles concentrations ($0,01 \mu\text{g.ml}^{-1}$ pendant 24 heures) peuvent induire également des altérations dendritiques significatives lorsque l'exposition est prolongée plus de 24 heures in vitro [50]. Plus récemment, l'administration sous-cutanée de kétamine ($5\text{-}25 \text{ mg.kg}^{-1}$) chez le rat nouveau-né à 10 jours a été associée à des modifications de protéines régulatrices (CaMKII) et marqueurs de la croissance axonale (GAP-43, augmentée au niveau de l'hippocampe, réprimée au niveau cortical), de la survie des neurones et de la synaptogénèse, ainsi qu'à des perturbations du comportement global de l'animal à l'âge adulte pour les doses les plus élevées [52]. Également, une administration de MK-801 ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) à 6 et 8 jours postnatal chez le rat entraîne une réduction significative, quoique modeste, de la neurogénèse postnatale mesurée notamment au niveau des cortex frontal et pariétal, du gyrus denté de

l'hippocampe et de la zone germinative sous-ventriculaire [53]. Ces modifications cellulaires sont associées à une diminution des performances mnésiques à l'âge de 6 mois [53].

Malgré tout, il est important de noter que, dans certaines conditions, l'injection de kétamine n'est pas plus, mais est en fait moins délétère que la douleur en elle-même. En effet, plusieurs travaux sur des rats nouveau-nés ont montré que les phénomènes de mort cellulaire et les troubles du comportement sont plus importants chez des animaux subissant une injection de formaldéhyde (modèle de douleur au niveau de la patte, à des doses n'induisant pas d'inflammation systémique) sans analgésiant que chez ceux ayant la même agression douloureuse mais recevant de la kétamine ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) [54, 55].

Chez le rat adulte, le N_2O peut entraîner des phénomènes de vacuolisation neuronale réversibles en trois heures dans certaines régions du cortex (cortex cingulaire et rétrospinal) pour des concentrations de 120 % (conditions hyperbares) pendant trois heures alors que pour des concentrations à 150 % pendant 8 heures il entraîne des phénomènes de mort neuronale [56]. Dans ces conditions, la co-administration d'un agent GABA-mimétique (benzodiazépine) prévient la mort neuronale [56]. Les concentrations minimales induisant des lésions réversibles correspondent aux concentrations maximales utilisées en clinique humaine. Utilisé sur un cerveau de rat en développement (exposition de la mère en fin de gestation à une concentration de 75 % pendant 8 à 48 heures), il est responsable d'une apoptose neuronale associée à des performances moins bonnes des animaux soumis ultérieurement à des tests comportementaux [57, 58].

Si la majoration de l'apoptose neuronale par divers protocoles anesthésiques est bien documentée, de nombreuses questions demeurent quant aux mécanismes et aux populations neurales impliquées. Récemment, nous avons pu démontrer au laboratoire que la sensibilité à une agression excitotoxique, d'une part et l'apoptose consécutive à l'exposition à un antagoniste des récepteurs NMDA (MK-801, kétamine), d'autre part, ne concernaient pas les mêmes populations neuronales [59].

3.4. LES ANESTHÉSIIQUES AGONISTES GABA

Les benzodiazépines et les barbituriques, agonistes du récepteur-canal GABA-A sont utilisées à visée sédatrice, anxiolytique (benzodiazépines), anti-convulsivante ou dans le cadre d'une anesthésie générale (benzodiazépines, barbituriques). Le phénobarbital et le diazépam ont été incriminés dans des phénomènes d'apoptose neuronale dans le cerveau de jeune rat via une répression de divers facteurs neurotrophiques (BDNF, Brain Derived Neurotrophic Factor ; NGF, Neural Growth Factor, neurotrophine NT-3 ou protéine antiapoptotique Bcl2 [60]). Cet effet est partiellement corrigé par une administration de β -œstradiol aux animaux [60]. En extrapolant au nouveau-né prématuré, on pourrait craindre que les barbituriques soient d'autant plus neurotoxiques que l'enfant est privé du β -œstradiol d'origine maternelle. En ce qui concerne les benzodiazépines, les expériences *in vitro* ne montrent pas d'effet proapoptotique de concentrations très élevées de midazolam ($0,25$ et $25 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) sur des neurones GABA-ergiques immatures [61] alors qu'une injection sous-cutanée de $9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ chez un rat âgé de 7 jours entraîne une neuroapoptose significative [62]. En revanche, l'exposition au phénobarbital, au diazépam ou au clonazépam pendant le développement entraîne une réduction de la masse cérébrale secondaire à une réduction du

nombre de neurones [63]. Comme nous l'avons vu plus haut, cette apoptose est associée à une diminution de l'expression de différentes neurotrophines ainsi que de l'expression et de la phosphorylation de protéines de signalisation subcellulaire (ERK 1/2, RAF, Akt) [63, 64].

Les effets délétères des agonistes GABA (isoflurane, seul ou en association) et/ou antagonistes NMDA sont également observés chez d'autres rongeurs (cochon d'Inde [65]), souriceau [62, 66-68]. Enfin, ils ne sont pas seulement observés au niveau cérébral mais également au niveau médullaire, sans conséquence fonctionnelle notable toutefois [69].

3.5. ASSOCIATIONS D'AGENTS ANESTHÉSIIQUES ET DURÉE D'EXPOSITION

Les associations de différentes drogues anesthésiques peuvent entraîner une neuroapoptose plus importante par comparaison à chacune des drogues prises isolément chez le rongeur immature. Cette majoration de la mort cellulaire neuronale est corrélée à une altération des capacités d'apprentissage. C'est le cas notamment de l'association isoflurane (0,75 à 1,5 %)-protoxyde d'azote (80 à 150 %, conditions hyperbares)-midazolam (9-25 mg.kg⁻¹) [70]. Ce protocole, appliqué à des rats de 7 jours, est responsable de mécanismes apoptotiques précoces, via la voie intrinsèque de l'apoptose (« down-regulation » de la protéine anti-apoptotique Bcl2, « up-regulation » du cytochrome c et activation de la caspase 9) et tardifs, via la voie extrinsèque (« up-regulation » de la protéine Fas et de la caspase 8) [63]. Cette association isoflurane-N₂O-midazolam, très différente des conditions cliniques, perturbe l'homéostasie des neurotrophines et notamment augmente dans des proportions supraphysiologiques l'expression du BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) (au contraire de ce qui a été observé par Bittigau et al [60]), entraînant une activation des caspases 3 et 9 et une dégénérescence proapoptotique [71]. Dans le même ordre d'idée, l'inhibition du récepteur intracellulaire du BDNF, le p75^{NTR}, inhibe l'apoptose de neurones d'hippocampe de souriceau de 5 à 7 jours induite par l'isoflurane 1,4 % [72]. L'association kétamine-midazolam induit également chez l'animal une apoptose plus importante que si une des drogues était administrée isolément [62]. De la même façon, chez le souriceau de 10 jours, Fredriksson et al. observent une majoration de l'apoptose corticale après administration unique soit d'une association thiopental (5 mg.kg⁻¹) et kétamine (25 mg.kg⁻¹), soit d'une association propofol (10 mg.kg⁻¹) et kétamine (25 mg.kg⁻¹), soit d'une dose plus élevée de propofol (60 mg.kg⁻¹). Cette mort cellulaire est associée à des altérations comportementales à l'âge adulte [73].

Globalement, quelle que soit la drogue employée, on observe en général une relation dose-effet ou temps d'exposition-effet [46, 50, 56]. Il faut noter également que des doses subanesthésiques de différents agents (kétamine [74], propofol [75], sevoflurane [76]) peuvent induire une neuroapoptose, y compris après injection unique [75]. Il serait certainement intéressant de déterminer la dose et la durée d'exposition seuils susceptible d'entraîner une apoptose neuronale de chaque agent anesthésique chez l'animal, comme cela a été fait pour l'alcool (concentration plasmatique minimale de 50 mg.dl⁻¹ pendant 30 minutes) et la kétamine (au-delà de 5 µg.ml⁻¹ pendant quatre heures *in vitro*) [46, 50].

Cela étant, un élément de complexité supplémentaire est que, dans certains travaux, les auteurs ont pu trouver un effet mutuellement inhibiteur de l'apoptose

par des molécules qui, isolément, seraient pro-apoptotiques (prévention de l'apoptose induite par le MK-801 par l'isoflurane ou le propofol) [77, 78].

3.6. QUELS MÉCANISMES CELLULAIRES ?

Nous avons vu aux chapitres précédents que la plupart des protocoles d'exposition du tissu nerveux aux agents anesthésiques induisent une mort cellulaire présentant les caractéristiques de l'apoptose (mise en jeu des caspases, notamment). Cependant, le signal initiant la cascade enzymatique entraînant cette mort cellulaire n'est quasiment pas exploré. Au niveau intracellulaire, certains auteurs ont démontré une implication des récepteurs de l'inositol triphosphate du réticulum endoplasmique (capables de mobiliser les stocks intracellulaires de Ca^{++}) dans les effets cytotoxiques de l'isoflurane *in vitro* [79]. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés chez le souriceau de 10 jours, chez qui la kétamine (5-25 mg.kg⁻¹) entraîne, au niveau de l'hippocampe, une augmentation de la Ca^{++} -calmoduline kinase II (CaMKII) associée à des altérations de la protéine GAP-43 (Growth Axon Protein 43 kD) [52]. Ils le sont également avec le fait que la toxicité de l'éthanol sur le cerveau du souriceau en développement est majorée chez des animaux génétiquement modifiés, déficitaires en adénylate cyclases Ca^{++} -dépendantes [80]. L'ensemble de ces données plaide pour une implication d'une majoration de la concentration intracellulaire de Ca^{++} dans les résultats observés. Certains auteurs, constatant que l'effet cytotoxique maximal des agents anesthésiques était observé à une période du développement où les effets du récepteur-canal GABA_A étaient « excitateurs » dans certaines structures [16, 17] ont proposé l'hypothèse selon laquelle l'effet dépolarisant de ce récepteur à cet âge amplifierait l'influx intracellulaire de Ca^{++} [11].

3.7. INFLUENCE DE L'ÂGE

La stimulation des voies apoptotiques induite à la suite d'une anesthésie générale, maximale chez un raton de sept jours n'est pas ou moins constatée lorsque le même protocole est appliqué à 14 jours de vie [37, 63]. Selon les différents auteurs, il y aurait une coïncidence entre le pic de synaptogénèse, observé à 7 jours chez le raton, et la sensibilité aux anesthésiques. Si l'on transpose ce raisonnement à l'être humain, il faut se rappeler que la synaptogénèse débute dès le 40^{ème} jour de conception, est maximale entre 26 semaines d'aménorrhée (SA) et 3 mois postnatal, demeure à un niveau très élevé, évoluant par « vagues » successives durant l'adolescence et ne s'arrête en fait jamais totalement, y compris chez l'adulte, puisqu'elle fait partie intégrante des processus d'apprentissage (plasticité synaptique) [81]. Il en va d'ailleurs de même pour la neurogénèse, puisqu'on estime que sur la durée d'une vie, la population neuronale du SNC est renouvelée une fois [82].

D'autre part, les effets des agents anesthésiques sur le métabolisme neuronal ne se limitent pas à la survie mais également à la croissance neuritique et à l'établissement de synapses dendritiques. *In vivo*, Vustkits et al. ont démontré que l'altération de ces phénomènes par le propofol et la kétamine, déjà prouvée *in vitro*, pouvait être observée chez le souriceau à des âges plus tardifs (15 et 20 jours postnatal) [50, 61, 74, 83]. Également, appliquant de l'isoflurane (3,6 %) sur des pro géniteurs neuraux issus d'hippocampe de raton de deux jours, Sall et al. n'ont pas observé d'effet sur la survie cellulaire, ont observé une réduction du nombre de mitoses des pro géniteurs en culture, dont la différenciation neuronale (versus gliale) était augmentée [84].

Enfin, pour mémoire, Jevtovic-Todorovic et al. ont comparé les effets neurotoxiques de la kétamine, associée ou non au N₂O chez des rats âgés de 6 mois (jeunes adultes) et de 18 et 24 mois (« vieillards ») et ont constaté un effet plus marqué chez les animaux les plus âgés [85].

3.8. ETUDES CHEZ LES PRIMATES NON HUMAINS

Les primates non humains ont un cytoarchitecture neuronale et un développement cérébral, et une physiologie en général (pharmacologie, métabolisme...) plus proches de l'humain. Il existe un effet toxique de la kétamine sur des cultures de neurones de cortex de macaque nouveau-né [86]. Cet effet neurotoxique chez le jeune primate est confirmé in vivo après une exposition prolongée à la kétamine (24 heures, 10-20 mg.kg⁻¹ puis 20-50 mg.kg⁻¹.h⁻¹, doses nécessaires à l'obtention d'une anesthésie chirurgicale « légère »). Une exposition plus courte (3 heures) n'entraîne pas d'augmentation significative de la mort neuronale [87, 88]. Cet élément serait plutôt rassurant en ce qui concerne l'utilisation courte en anesthésie générale. In vivo, l'effet toxique est observé à 5 jours mais pas à 35 jours de vie [87, 88].

3.9. UN MOT SUR LES OPIACÉS

En parallèle des systèmes opioïdes μ , κ et δ classiquement décrits, un système apparenté (ligand nociceptine et récepteur NOP/ORL1) a été identifié à la fin des années 1990 [89]. Au laboratoire, nous avons observé que le fentanyl, ligand de faible affinité du récepteur NOP, aggravait les lésions de la substance blanche péri ventriculaire induites dans un modèle de lésion cérébrale excitotoxique du souriceau. Cet effet aggravant était dose-dépendant (1 à 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et insensible aux antagonistes des récepteurs μ (naloxone). Il était en revanche prévenu par l'administration conjointe d'un antagoniste des récepteurs de la nociceptine [90]. Son mécanisme exact demeure inconnu. Par ailleurs, très peu de travaux expérimentaux ont étudié les effets des opiacés sur le développement cérébral en dehors d'un contexte lésionnel. Seul le groupe de Meriney, dans des travaux relativement anciens, a montré un effet trophique, favorisant la survie neuronale, des enképhalines et de la morphine exogène sur les neurones du ganglion ciliaire de poulet en développement [91, 92].

4. LIMITES DES APPROCHES EXPÉRIMENTALES : COMMENT INTERPRÉTER LES DOSES ET DURÉES D'EXPOSITION CHEZ L'ANIMAL ?

Concernant les durées et conditions d'exposition, il est clair que des injections quotidiennes ou pluriquotidiennes de kétamine chez le petit rongeur en développement qui, après une gestation d'environ 3 semaines, atteindra la maturité sexuelle vers 6 à 8 semaines, ne correspondent pas aux conditions d'une anesthésie humaine. La même objection peut être soulevée lorsqu'il s'agit d'observer les effets du N₂O administré en conditions hyperbares [56, 70]. Elles se rapprocheraient davantage d'une situation d'analgésie-sédation prolongée en réanimation (si, pour ce faire, la kétamine était choisie, ce qui ne correspond pas à la pratique la plus courante des pays industrialisés) ou, à la rigueur, d'anesthésies récurrentes rapprochées, par exemple pour pansement de brûlure.

En revanche, même si on considère le développement du rongeur comme « compacté dans le temps » par comparaison à l'humain, il faut garder en tête

que la clairance de la kétamine est, même après une injection unique, très rapide chez le rongeur (en tout cas à l'âge adulte) puisqu'une dose de 100 mg.kg⁻¹ ne permet d'obtenir une perte du réflexe de redressement (Loss of Righting Reflex, considérée comme un reflet de la composante hypnotique) que pour une durée de 8 à 10 minutes environ chez la souris adulte [93].

On doit par ailleurs souligner l'existence de résultats négatifs, ne montrant aucun effet toxique des anesthésiques, rapportés par certains auteurs mais probablement insuffisamment publiés [94-98]. Dans certains cas, des altérations ont été effectivement observées au niveau cellulaire chez le jeune animal mais sans conséquence décelable sur le plan comportemental à l'âge adulte, ce qui peut être lié soit à la mise en place de mécanismes compensateurs lors du développement, soit au choix inapproprié des tests comportementaux employés [99].

Surtout, si l'on excepte celles d'Anand [55, 100], les expériences citées ici ont quasiment toutes été conduites chez des animaux en conditions basales, c'est-à-dire sans stress ou stimulus nociceptif. Dans différents modèles expérimentaux, il est établi que le stress peut participer à l'aggravation de lésions cérébrales, en particulier au niveau de l'hippocampe [101]. Dans la mesure où, chez l'humain, une administration d'agents sédatifs ou anesthésiques est toujours motivée par le souhait de prévenir un stress ou une douleur, il serait particulièrement intéressant de focaliser les recherches sur les effets des drogues sur le SNC dans des modèles de stress ou d'agression chirurgicale.

Quant à l'existence d'autres biais (stress lié à la séparation maternelle récurrente, perte de l'homéostasie thermique, altérations hémodynamiques, risques d'hypoglycémie et d'altération de l'état nutritionnel, acidose hypercapnique, hypoxie), ils ont été correctement contrôlés dans un grand nombre de travaux [62, 68, 87, 88, 98, 102-104]. Toutefois, même si l'on considère que tous les groupes expérimentaux d'un protocole sont en principe soumis aux mêmes biais, il est probable qu'ils ont pu participer aux effets observés par certaines équipes (hypercapnie notamment [102, 103]). Enfin, il faut noter, d'une part, que certains protocoles expérimentaux sont très éloignés des conditions cliniques (administration de N₂O en conditions hyperbares, par exemple [70]) et, d'autre part, que la grande majorité des expériences est menée chez des animaux des deux sexes sans analyse distincte des mâles et des femelles, ce qui n'a peut-être pas la même importance que dans le cas d'une lésion cérébrale (où, à quelques exceptions près, les femelles semblent mieux « protégées »). Une telle analyse de l'effet du sexe serait simple à faire par examen visuel des organes génitaux.

5. EXISTE-T-IL DES MOYENS PHARMACOLOGIQUES PERMETTANT DE LIMITER LES EFFETS NEUROTOXIQUES DES AGENTS ANESTHÉSIFIQUES ?

A ce jour, plusieurs pistes ont été explorées, dont les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidés. Ma et al. ont démontré, in vivo et in vitro, que quelques heures d'exposition à l'isoflurane 0,75 % activaient les voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose, induisant une mort cellulaire potentialisée par l'ajout de 30 à 60 % de protoxyde d'azote au niveau du cortex et des noyaux gris centraux [105]. L'addition de Xénon (antagoniste du site glycine de la sous-unité NR1 du récepteur NMDA) 70 % à l'isoflurane ramenait le niveau de neuroapoptose à celui des animaux contrôles [105]. Ces résultats sont toutefois contredits par

ceux obtenus par Cattano et al. qui, chez le souriceau, observent également une atténuation de la neuroapoptose induite par l'isoflurane 0,75 % au niveau des mêmes structures anatomiques par l'addition de Xénon 70 % mais observent également que le Xénon seul a un effet proapoptotique et semble donc doué de propriétés duales [78].

La L-Carnitine, un acide aminé que les neurones GABA-ergiques sont capables de capter et qui participe à la synthèse de glutathion et, ainsi, à l'homéostasie cellulaire, a également un effet préventif sur l'effet neurotoxique de l'association isoflurane 0,55 %-N₂O 75 % pendant 2 à 8 heures chez le raton [96].

La mélatonine, une hormone naturelle impliquée dans le cycle nyctéméral et douée de propriétés antiradicalaires, par ailleurs employée dans certains essais cliniques sur la prémédication préopératoire chez l'enfant avec des résultats intéressants sur le niveau d'anxiété et d'agitation au réveil [106], possède un effet anti-apoptotique (prédominant sur la voie mitochondriale-intrinsèque et visible au niveau cortical et thalamique) lorsque des ratons sont exposés à l'association midazolam- isoflurane-N₂O [107].

Le lithium, un métal léger naturel, employé depuis des dizaines d'années en psychiatrie mais d'usage délicat et possédant de nombreux effets secondaires, s'est avéré efficace pour prévenir l'apoptose induite par la kétamine ou le propofol chez le souriceau, en restaurant les niveaux de phosphorylation d'enzymes intracellulaires de type ERK (Extracellular Regulated Kinases) [64].

La dexmédétomidine, sédatif largement employé dans les réanimations des pays anglo-saxons, possède peut-être de modestes propriétés pro-apoptotiques dans certaines conditions expérimentales [108], mais atténue les effets toxiques des autres agents anesthésiques [109, 110].

La mémantine, un antiNMDA partiel, développé pour ses propriétés d'atténuation des variations de calcium cytosolique susceptible de précipiter la formation de protéine amyloïde A β , plutôt dans l'optique de la maladie d'Alzheimer, a prouvé, in vitro et in vivo, qu'elle pouvait limiter l'activation de la formation de protéine amyloïde A β et l'activation de la caspase 3 après exposition à l'isoflurane [111]. Enfin, nous avons vu plus haut les effets protecteurs des oestrogènes dans ce contexte [60, 63].

6. DONNÉES CLINIQUES

6.1. TÉRATOGENICITÉ

A l'heure actuelle, les données cliniques humaines sur la toxicité des drogues sédatives et anesthésiques sur le cerveau en développement sont relativement limitées. Les études épidémiologiques menées au sein du personnel des blocs opératoires ou celles conduites chez des femmes anesthésiées de façon ponctuelle au cours de leur grossesse n'ont jamais permis d'établir avec certitude l'existence d'un effet tératogène des agents anesthésiques généraux [112]. En revanche, les anti-épileptiques (qui sont également, pour la plupart, des molécules agissant sur les voies NMDA et GABA) sont décrits comme l'une des causes toxiques les plus fréquentes de syndromes polymalformatifs fœtaux (anomalie de fermeture du tube neural, malformations orofaciales, digitales, retards de développement psychomoteur, retards de croissance). Ces effets indésirables ont été particulièrement décrits avec la carbamazépine et le phénobarbital [112]. En ce qui concerne le développement cognitif, une publication récente suivant

le devenir à 3 ans d'enfants nés de mères traitées par différents antiépileptiques a rapporté une réduction moyenne de 9 points du quotient intellectuel après traitement par valproate (QI moyen 92) versus lamotrigine (QI moyen 101, $p = 0,009$) [113].

6.2. ANESTHÉSIE POUR CÉSARIENNE

Sprung et al. ont également publié cette année une étude issue du registre d'un comté du Minnesota (voir Wilder et al., *infra*), comparant l'incidence des troubles des apprentissages selon que les enfants étaient nés par voie basse ou par césarienne et, dans ce dernier cas, sous anesthésie générale ou locorégionale, entre 1976 et 1982. Sur 5320 naissances, 497 ont eu lieu par césarienne (dont 193 sous anesthésie générale et 304 sous anesthésie locorégionale). L'incidence des troubles des apprentissages variait en fonction des modalités de naissance ($P = 0,05$ après ajustement sur le sexe, le poids de naissance, l'âge gestationnel à la naissance, l'environnement socio-éducatif et la nécessité de procédures sous anesthésie générale avant l'âge de 4 ans). Le risque de trouble des apprentissages était similaire selon que l'enfant était né par voie basse ou par césarienne sous anesthésie générale. Il était réduit chez ceux nés par césarienne sous anesthésie locorégionale par comparaison avec l'anesthésie générale (OR = 0,64, 95 % IC 0,44 à 0,92 ; $P = 0,017$) mais on peut penser que de nombreux biais (facteurs maternels ou obstétricaux ayant abouti au choix de la stratégie d'extraction) sont davantage responsables du résultat observé que la brève exposition aux agents de l'anesthésie en elle-même [114].

6.3. ETUDES CHEZ LE NOUVEAU-NÉ

Au cours des 50 dernières années, les progrès enregistrés en néonatalogie et en anesthésie-réanimation pédiatrique se sont accompagnés d'une augmentation des situations dans lesquelles les nouveau-nés ou les enfants reçoivent des drogues anesthésiques de façon répétée ou prolongée. La plupart de ces travaux concernent malheureusement des enfants porteurs de pathologies en elles-mêmes susceptibles d'altérer le développement neurologique (prématurité et ses complications, cardiopathies congénitales et les inévitables complications et hospitalisations prolongées qui en découlent) [115, 116]. On sait que deux groupes d'enfants opérés de tympanostomies à l'âge de 3 ans ou 9 mois plus tard n'ont pas un développement cognitif différent entre 9 et 11 ans [117].

Une étude récemment publiée par Wilder et al. est venue renforcer les inquiétudes des cliniciens. Dans ce travail, 593 enfants ayant eu une chirurgie sous anesthésie générale entre 1976 et 1982 ont été comparés à 4764 enfants n'ayant eu aucune anesthésie. A l'âge de 4 ans, après ajustement sur le sexe, l'âge gestationnel, le poids de naissance, le niveau d'éducation parentale, aucune différence n'était observée concernant les troubles des apprentissages. L'âge de la première procédure anesthésie-chirurgie, pris isolément, n'était pas un facteur de risque. En revanche, les 100 enfants ayant eu 2 anesthésies et les 44 en ayant eu 3 avaient significativement plus de troubles cognitifs (OR 1,59; IC95 %, 1,06–2,37 après 2 procédures chirurgicales, OR 2,60 ; IC 95 %, 1,60–4,24, après 3 procédures). D'autre part, il existait une corrélation entre le temps total de la procédure anesthésie-chirurgie et le risque de trouble des apprentissages ($P = 0,016$) [118]. Bien entendu, cette étude rétrospective a été discutée sur plusieurs points. Tout d'abord, le groupe des enfants opérés présentait un taux de complications obstétricales (dystocie, hémorragie) plus élevé [118].

La possibilité d'hyperoxie répétée, source potentielle de stress oxydatif ou, au contraire, d'hypoxies/hypercapnies (à une époque où le monitoring de la SpO_2 et de l' $ETCO_2$ n'était pas systématique dans les centres concernés) ont également été évoquée comme facteur confondant pour les deux études [119, 120]. Enfin, toute chirurgie « lourde », pourvoyeuse de syndrome inflammatoire, est potentiellement délétère pour le cerveau en développement [121].

Une autre étude sur registre a été publiée par une équipe néerlandaise en 2009. Dans ce travail, réalisé chez 314 enfants opérés de chirurgie urologique sous anesthésie générale propofol-opiacés, parfois complétée par un bloc pénién, les enfants étaient opérés avant ou après l'âge de deux ans. Un questionnaire de type Child Behavior Checklist 4-18 comportant 120 questions (comportement scolaire, émotionnel, sociabilité...), était remis aux parents, éventuellement en double exemplaire en cas de discordance dans les réponses. 243 questionnaires ont été analysés. Ils n'ont relevé aucune différence significative du Child Behavior Checklist 4-18 selon que l'enfant avait été opéré avant l'âge de 6 mois, de 6 à 12 mois, de 12 à 24 mois ou plus tard. Sur base des résultats de cette étude pilote, les auteurs ont calculé qu'une étude épidémiologique de large ampleur (risque α 0,05, puissance 80 %) nécessiterait l'inclusion de 2 268 enfants pour détecter un effet sur le développement cognitif [122].

6.4. ET LE PRÉMATURÉ ?

L'étude NEOPAIN a suggéré que certaines complications cérébrales de la prématurité (hémorragies intracrâniennes) étaient plus fréquentes chez les enfants en ventilation artificielle traités par morphine par comparaison avec ceux recevant un placebo [123]. Il s'agissait d'une des deux seules études prospectives contrôlées contre placebo évaluant les effets d'une sédation systématique par morphine sur le devenir d'enfants prématurés. Réalisée de façon multicentrique, elle a inclus 898 nouveau-nés grands prématurés (moins de 32 SA) [123]. Malgré les efforts des investigateurs, certains biais peuvent, là aussi, être à l'origine de ces résultats, en l'occurrence plutôt inquiétants. En particulier, les auteurs ont eux-mêmes souligné le fait que certains examens échographiques destinés à dépister les lésions cérébrales avaient été réalisés après la randomisation, ce qui pouvait avoir abouti à une répartition inégale des complications de la prématurité les plus précoces entre les deux groupes (hémorragies intracrâniennes) [123]. D'autre part, on peut penser que les posologies utilisées dans cette étude (de 10 à 30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ après un bolus de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) se sont avérées excessives pour certains enfants. Le risque d'hémorragie intracrânienne était sans doute augmenté chez les enfants ayant reçu de la morphine alors qu'ils avaient une hypotension artérielle préexistante [124]. Une autre étude prospective randomisée contre placebo, réalisée sur deux centres, n'a pas retrouvé cet effet délétère de la morphine chez le grand prématuré [125]. Dans ces deux études, de façon étonnante, les scores de douleur et d'inconfort n'étaient pas différents entre les groupes. Bien que certains auteurs aient discuté une possible immaturité des récepteurs des opioïdes chez les extrêmes prématurés, le fait que 40 à 50 % des enfants du groupe placebo aient, dans les deux études, reçu de la morphine open label en rescue, explique sans doute pour partie cette observation. Il ne semble donc pas, à l'heure actuelle exister d'arguments incontestables autorisant à récuser le principe de l'emploi d'un analgésique morphinique chez le nouveau-né, même prématuré, si le niveau de stimulus douloureux le justifie

et si la situation hémodynamique est contrôlée. Il n'est malheureusement pas non plus possible de conclure définitivement à une innocuité plus sûre de l'un ou l'autre morphinique commercialisé.

En ce qui concerne les associations benzodiazépine-morphinique couramment employées en réanimation, une étude rétrospective publiée récemment par Rozé et al. dans le cadre de l'analyse de la cohorte EPIPAGE est plutôt rassurante : les nouveau-nés prématurés ayant reçu plus de 7 jours de sédation par benzodiazépines et/ou morphiniques (n = 115) n'ont pas eu une évolution neurologique plus défavorable à 5 ans que ceux ayant reçu une sédation de plus courte durée ou pas de sédation (n = 1457), après pondération par les autres facteurs de risque recensés [126]. Les éditoriaux récents insistent sur l'urgence de réaliser des essais cliniques prospectifs [127] et des études de suivi épidémiologiques afin d'évaluer l'effet des drogues anesthésiques sur le cerveau en développement à l'échelle humaine [128, 129].

7. FAUT-IL ENCORE FAIRE DES ANESTHÉSIES GÉNÉRALES CHEZ LE NOUVEAU-NÉ ?

Si l'on considère les éléments suscités (prédominance de données expérimentales chez le rongeur, variabilité des modèles parfois très éloignés des réalités cliniques, pauvreté actuelle des données cliniques, biais divers cliniques et expérimentaux, difficultés prévisibles à mettre en évidence une augmentation significative du risque dans le cadre d'études de méthodologie correcte...), il ne nous paraît pas raisonnable de récuser de façon systématique le principe de l'anesthésie générale chez un nouveau-né ou un nourrisson. D'un point de vue pratique, une telle contre-indication semble de toute façon irréalisable chez la majorité des enfants, si l'on excepte quelques cas particuliers (cure de hernie inguinale du prématuré sous rachianesthésie, chirurgie orthopédique simple sous anesthésie locorégionale couplée à une sédation légère...).

Dans la majorité des cas, l'anesthésie générale reste actuellement incontournable, éventuellement associée à une anesthésie locorégionale, médullaire ou périphérique.

En revanche, trois points doivent être considérés :

- Il est établi depuis de nombreuses années que l'âge de l'enfant inférieur à 1 an constitue un facteur de risque de complications engageant le pronostic vital (désaturations, arrêt cardiaque...) [130, 131]. Pour cette raison, il n'est jamais envisagé, hors urgence, de réaliser une procédure diagnostique ou thérapeutique sous anesthésie générale qui pourrait être reportée à un âge ultérieur. L'argument d'une éventuelle neurotoxicité des agents anesthésiques généraux chez le nourrisson ou le nouveau-né, même peu ou pas documenté, va de toute manière dans le même sens.
- Les données expérimentales et cliniques vont dans le sens d'un « effet-temps » et d'un « effet-dose/concentration » des anesthésiques en terme d'induction de la neuroapoptose. Cela doit nous inciter à aller vers un maximum de précision dans la réalisation de la procédure anesthésique et pourrait constituer un argument en faveur du monitoring de l'électroencéphalogramme par l'une ou l'autre méthode (BIS, EEG monodérivation...) ;

Le débat sur la toxicité cérébrale des anesthésiques généraux a été porté à la connaissance du grand public. Les parents des enfants vus en consultation

vont donc probablement interroger dans certains cas les médecins anesthésistes-réanimateurs sur ce point. Sans préjuger de l'information que les équipes souhaiteront mettre en place dans leurs structures, il nous semble qu'il est impossible, dans la majeure partie des cas, de distinguer l'impact cérébral spécifique de l'anesthésie de celui de l'ensemble anesthésie-chirurgie-comorbidités. De notre point de vue, il serait donc plutôt souhaitable d'insister sur la nécessité, dès lors qu'une indication de geste douloureux est incontournable, de l'encadrer par une anesthésie de qualité. Une telle information permettrait, sans nier l'existence de questions encore non totalement résolues, de rassurer les parents, étant donné le grand nombre d'anesthésies générales néonatales et du nourrisson réalisé depuis plusieurs décennies au niveau mondial sans conséquences décelées.

CONCLUSION

La plupart des drogues anesthésiques utilisées en pédiatrie et en obstétrique sont des antagonistes NMDA ou des agonistes GABA. Utilisées en association, elles peuvent, dans certaines conditions expérimentales, parfois extrêmes, être responsables d'une apoptose neuronale dans différentes structures du cerveau en développement chez le rongeur et le primate non humain. Cette mortalité neuronale est, dans certains cas, associée à une modification du comportement et des capacités d'apprentissage de l'animal adulte. Il semble exister une fenêtre de vulnérabilité à ces agents correspondant aux phases maximales de croissances axonale et dendritique et de synaptogénèse, quoique ce point ne soit pas totalement clair compte tenu des résultats observés chez l'animal âgé et chez le vieillard humain, d'une part et du fait que ces éléments de la physiologie cérébrale sont maintenant connus pour être actifs tout au long de la vie et non limités au développement initial (comme on le pensait encore il y a une dizaine d'années), d'autre part. Il est impossible de conclure avec comme seul support les études animales. Il est notamment actuellement difficile de spéculer sur les conséquences d'une augmentation de la mortalité cellulaire à une période donnée de la vie puisque, tout au long de celle-ci, le fonctionnement cérébral sera dépendant de cet équilibre entre mortalité neuronale et neurogénèse. Cependant, ces données doivent nous alerter et nous encourager à réaliser des protocoles de recherche animale se superposant le mieux possible aux protocoles d'anesthésie en obstétrique et en pédiatrie, c'est-à-dire en conditions chirurgicales. D'autres études sur des espèces plus proches de l'homme en termes de phylogénèse (primates) seraient sans doute également souhaitables. On pourrait également envisager la constitution de cohortes d'enfants opérés à la naissance et comparés à une population contrôle.

Dans la mesure où l'anesthésie en période néonatale est toujours imposée par une chirurgie non différable ou par une situation d'inconfort ou de stress majeurs, la meilleure recommandation « pratico-pratique » reste certainement de déterminer avec le plus de précision possible la durée et l'intensité (ou « profondeur ») que l'anesthésie doit alors avoir en fonction de la situation clinique, de façon à limiter autant que possible une éventuelle neurotoxicité. En tout état de cause, il ne nous paraît pas raisonnable, sur base des connaissances actuelles, de remettre en question le principe, éthique, d'un traitement optimal de la douleur et de l'inconfort à tout âge.

Enfin, il ne paraît pas réalisable d'effectuer en routine un suivi neurocognitif spécialisé chez tout enfant ayant eu une anesthésie dans l'enfance. En revanche, les auteurs plaident pour qu'un tel suivi soit organisé, quand les ressources régionales le permettent, en cas de chirurgie lourde ou répétée chez le petit enfant.

CONFLITS D'INTÉRÊT

Le laboratoire EA 4309 bénéficie ou a bénéficié de subventions de recherche de la part des organismes et sociétés savantes suivants : Agence Nationale de la Recherche (ANR), Institut de Recherche et d'Etude des Boissons (IREB), Société Française d'Anesthésie et Réanimation (SFAR), Institut National de la Recherche Médicale (INSERM), Université de Rouen, Conseil Régional de Haute-Normandie, Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur, Fondation Motrice, Fondation ELA, Association des Journées Francophones de Recherche en Néonatalogie, Fondation Grace de Monaco.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Franks, N.P. and W.R. Lieb. Where do general anaesthetics act? *Nature*, 1978;274:339-42.
- [2] O'Keeffe, S.T. and A. Ni Chonchubhair. Postoperative delirium in the elderly. *Br J Anaesth*, 1994;73:673-87.
- [3] McKhann, G.M., M.A. Goldsborough, L.M. Borowicz, Jr., et al. Cognitive outcome after coronary artery bypass: a one-year prospective study. *Ann Thorac Surg*, 1997;63:510-5.
- [4] Roach, G.W., M. Kanchuger, C.M. Mangano, et al. Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators. *N Engl J Med*, 1996;335:1857-63.
- [5] Wolman, R.L., N.A. Nussmeier, A. Aggarwal, et al. Cerebral injury after cardiac surgery: identification of a group at extraordinary risk. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group (McSPI) and the Ischemia Research Education Foundation (IREF) Investigators. *Stroke*, 1999;30:514-22.
- [6] Newman, M.F., J.L. Kirchner, B. Phillips-Bute, et al. Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*, 2001;344:395-402.
- [7] Moller, J.T., Cluitmans, L.S. Rasmussen, et al. Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction. *Lancet*, 1998;351:857-61.
- [8] Avidan, M.S., A.C. Searleman, M. Storandt, et al. Long-term cognitive decline in older subjects was not attributable to noncardiac surgery or major illness. *Anesthesiology*, 2009;111:964-70.
- [9] Wang, C. and W. Slikker, Jr. Strategies and experimental models for evaluating anesthetics: effects on the developing nervous system. *Anesth Analg*, 2008;106:1643-58.
- [10] Soriano, S.G. and K.J. Anand. Anesthetics and brain toxicity. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2005;18:293-7.
- [11] Patel, and L. Sun. Update on neonatal anesthetic neurotoxicity: insight into molecular mechanisms and relevance to humans. *Anesthesiology*, 2009;110:703-8.
- [12] Bhutta, A.T., A.K. Venkatesan, C.R. Rovnaghi, et al. Anaesthetic neurotoxicity in rodents: is the ketamine controversy real? *Acta Paediatr*, 2007;96:1554-56.
- [13] Feinstein-Rotkopf, Y. and E. Arama. Can't live without them, can live with them: roles of caspases during vital cellular processes. *Apoptosis*, 2009;14:980-95.
- [14] Hagberg, H., C. Mallard, C.I. Rousset, et al. Apoptotic mechanisms in the immature brain: involvement of mitochondria. *J Child Neurol*, 2009;24:1141-6.
- [15] Dobbing, J. and J. Sands. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev*, 1979;3:79-83.
- [16] Rheims, S., M. Minlebaev, A. Ivanov, et al. Excitatory GABA in rodent developing neocortex in vitro. *J Neurophysiol*, 2008;100:609-19.

- [17] Tyzio, R., M. Minlebaev, S. Rheims, et al. Postnatal changes in somatic gamma-aminobutyric acid signalling in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci*, 2008;27:2515-28.
- [18] Tyzio, R., A. Represa, I. Jorquera, et al. The establishment of GABAergic and glutamatergic synapses on CA1 pyramidal neurons is sequential and correlates with the development of the apical dendrite. *J Neurosci*, 1999;19:10372-82.
- [19] Keifer, J.C., H.A. Baghdoyan and R. Lydic. Pontine cholinergic mechanisms modulate the cortical electroencephalographic spindles of halothane anesthesia. *Anesthesiology*, 1996;84:945-54.
- [20] Nelson, L.E., T.Z. Guo, J. Lu, et al. The sedative component of anesthesia is mediated by GABA(A) receptors in an endogenous sleep pathway. *Nat Neurosci*, 2002;5:979-84.
- [21] Rudolph, U. and B. Antkowiak. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat Rev Neurosci*, 2004;5:709-20.
- [22] Rammes, G., L.K. Starker, R. Haseneder, et al. Isoflurane anaesthesia reversibly improves cognitive function and long-term potentiation (LTP) via an up-regulation in NMDA receptor 2B subunit expression. *Neuropharmacology*, 2009;56:626-36.
- [23] Young, C., T. Tenkova, K. Dikranian, et al. Excitotoxic versus apoptotic mechanisms of neuronal cell death in perinatal hypoxia/ischemia. *Curr Mol Med*, 2004;4:77-85.
- [24] Marret, S., R. Mukendi, J.F. Gadiisseux, et al. Effect of ibotenate on brain development: an excitotoxic mouse model of microgyria and posthypoxic-like lesions. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1995;54:358-70.
- [25] Ikonomidou, C. and L. Turski. Prevention of trauma-induced neurodegeneration in infant and adult rat brain: glutamate antagonists. *Metab Brain Dis*, 1996;11:125-41.
- [26] Luo, Y., D. Ma, E. leong, et al. Xenon and sevoflurane protect against brain injury in a neonatal asphyxia model. *Anesthesiology*, 2008;109:782-9.
- [27] Gray, J.J., P.E. Bickler, C.S. Fahlman, et al. Isoflurane neuroprotection in hypoxic hippocampal slice cultures involves increases in intracellular Ca²⁺ and mitogen-activated protein kinases. *Anesthesiology*, 2005;102:606-15.
- [28] Inoue, S., D.P. Davis, J.C. Drummond, et al. The combination of isoflurane and caspase 8 inhibition results in sustained neuroprotection in rats subject to focal cerebral ischemia. *Anesth Analg*, 2006;102:1548-55.
- [29] Inoue, S., J.C. Drummond, D.P. Davis, et al. Combination of isoflurane and caspase inhibition reduces cerebral injury in rats subjected to focal cerebral ischemia. *Anesthesiology*, 2004;101:75-81.
- [30] Li, L. and Z. Zuo. Isoflurane preconditioning improves short-term and long-term neurological outcome after focal brain ischemia in adult rats. *Neuroscience*, 2009;164:497-506.
- [31] Zhao, P., L. Peng, L. Li, et al. Isoflurane preconditioning improves long-term neurologic outcome after hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Anesthesiology*, 2007;107:963-70.
- [32] Zhao, and Z. Zuo. Isoflurane preconditioning induces neuroprotection that is inducible nitric oxide synthase-dependent in neonatal rats. *Anesthesiology*, 2004;101:695-703.
- [33] Shapira, Y., A.M. Lam, C.C. Eng, et al. Therapeutic time window and dose response of the beneficial effects of ketamine in experimental head injury. *Stroke*, 1994;25:1637-43.
- [34] McAuliffe, J.J., A.W. Loepke, L. Miles, et al. Desflurane, isoflurane, and sevoflurane provide limited neuroprotection against neonatal hypoxia-ischemia in a delayed preconditioning paradigm. *Anesthesiology*, 2009;111:533-46.
- [35] Sasaoka, N., M. Kawaguchi, Y. Kawaraguchi, et al. Isoflurane exerts a short-term but not a long-term preconditioning effect in neonatal rats exposed to a hypoxic-ischaemic neuronal injury. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2009;53:46-54.
- [36] Kawaguchi, M., J.R. Kimbro, J.C. Drummond, et al. Isoflurane delays but does not prevent cerebral infarction in rats subjected to focal ischemia. *Anesthesiology*, 2000;92:1335-42.
- [37] Ikonomidou, C., F. Bosch, M. Miksa, et al. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*, 1999;283:70-4.
- [38] Felderhoff-Mueser, U. and C. Ikonomidou. Mechanisms of neurodegeneration after paediatric brain injury. *Curr Opin Neurol*, 2000;13:141-5.
- [39] Ishimaru, M.J., C. Ikonomidou, T.I. Tenkova, et al. Distinguishing excitotoxic from apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain. *J Comp Neurol*, 1999;408:461-76.
- [40] Pohl, D., Bittigau, M.J. Ishimaru, et al. N-Methyl-D-aspartate antagonists and apoptotic cell death triggered by head trauma in developing rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999;96:2508-13.

- [41] Levin, E.D., E. Uemura and R.E. Bowman. Neurobehavioral toxicology of halothane in rats. *Neurotoxicol Teratol*, 1991;13:461-70.
- [42] Lane, G.A., M.L. Nahrwold, A.R. Tait, et al. Anesthetics as teratogens: nitrous oxide is fetotoxic, xenon is not. *Science*, 1980;210:899-901.
- [43] Gressens, P., B. Mesples, N. Sahir, et al. Environmental factors and disturbances of brain development. *Semin Neonatol*, 2001;6:185-94.
- [44] Lovinger, D.M., G. White and F.F. Weight. Ethanol inhibits NMDA-activated ion current in hippocampal neurons. *Science*, 1989;243:1721-4.
- [45] Aguayo, L.G. Ethanol potentiates the GABAA-activated Cl⁻ current in mouse hippocampal and cortical neurons. *Eur J Pharmacol*, 1990;187:127-30.
- [46] Ikonomidou, C., Bittigau, M.J. Ishimaru, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science*, 2000;287:1056-60.
- [47] Wozniak, D.F., R.E. Hartman, M.P. Boyle, et al. Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults. *Neurobiol Dis*, 2004;17:403-14.
- [48] Hayashi, H., Dikkes and S.G. Soriano. Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain. *Paediatr Anaesth*, 2002;12:770-4.
- [49] Scallet, A.C., L.C. Schmued, W. Slikker, Jr., et al. Developmental neurotoxicity of ketamine: morphometric confirmation, exposure parameters, and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons. *Toxicol Sci*, 2004;81:364-70.
- [50] Vutskits, L., E. Gascon, E. Tassonyi, et al. Effect of ketamine on dendritic arbor development and survival of immature GABAergic neurons in vitro. *Toxicol Sci*, 2006;91:540-9.
- [51] Weber, F., H. Wulf, M. Gruber, et al. S-ketamine and s-norketamine plasma concentrations after nasal and i.v. administration in anesthetized children. *Paediatr Anaesth*, 2004;14:983-8.
- [52] Viberg, H., E. Ponten, Eriksson, et al. Neonatal ketamine exposure results in changes in biochemical substrates of neuronal growth and synaptogenesis, and alters adult behavior irreversibly. *Toxicology*, 2008;249:153-9.
- [53] Stefovaska, V.G., O. Uckermann, M. Czuczwar, et al. Sedative and anticonvulsant drugs suppress postnatal neurogenesis. *Ann Neurol*, 2008;64:434-45.
- [54] Anand, K.J. Anesthetic neurotoxicity in newborns: should we change clinical practice? *Anesthesiology*, 2007;107:2-4.
- [55] Rovnaghi, C.R., S. Garg, R.W. Hall, et al. Ketamine analgesia for inflammatory pain in neonatal rats: a factorial randomized trial examining long-term effects. *Behav Brain Funct*, 2008;4:35.
- [56] Jevtovic-Todorovic, V., J. Beals, N. Benschoff, et al. Prolonged exposure to inhalational anesthetic nitrous oxide kills neurons in adult rat brain. *Neuroscience*, 2003;122:609-16.
- [57] Mullenix, P.J., P.A. Moore and M.S. Tassinari. Behavioral toxicity of nitrous oxide in rats following prenatal exposure. *Toxicol Ind Health*, 1986;2:273-87.
- [58] Tassinari, M.S., P.J. Mullenix and P.A. Moore. The effects of nitrous oxide after exposure during middle and late gestation. *Toxicol Ind Health*, 1986;2:261-71.
- [59] Desfeux, A., F. El Ghazi, S. Jegou, et al. Dual Effect of Glutamate on GABAergic Interneuron Survival during Cerebral Cortex Development in Mice Neonates. *Cereb Cortex*, 2009.
- [60] Bittigau, P., M. Sifringer, K. Genz, et al. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002;99:15089-94.
- [61] Vutskits, L., E. Gascon, E. Tassonyi, et al. Clinically relevant concentrations of propofol but not midazolam alter in vitro dendritic development of isolated gamma-aminobutyric acid-positive interneurons. *Anesthesiology*, 2005;102:970-6.
- [62] Young, C., V. Jevtovic-Todorovic, Y.Q. Qin, et al. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Br J Pharmacol*, 2005;146:189-97.
- [63] Bittigau, P., M. Sifringer and C. Ikonomidou. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. *Ann NY Acad Sci*, 2003;993:103-14; discussion 123-4.
- [64] Straiko, M.M., C. Young, D. Cattano, et al. Lithium protects against anesthesia-induced developmental neuroapoptosis. *Anesthesiology*, 2009;110:862-8.
- [65] Rizzi, S., L.B. Carter, C. Ori, et al. Clinical anesthesia causes permanent damage to the fetal guinea pig brain. *Brain Pathol*, 2008;18:198-210.

- [66] Young, C. and J.W. Olney. Neuroapoptosis in the infant mouse brain triggered by a transient small increase in blood alcohol concentration. *Neurobiol Dis*, 2006;22:548-54.
- [67] Olney, J.W., T. Tenkova, K. Dikranian, et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in the developing C57BL/6 mouse brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 2002;133:115-26.
- [68] Johnson, S.A., C. Young and J.W. Olney. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of nonhypoglycemic mice. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2008;20:21-8.
- [69] Sanders, R.D., J. Xu, Y. Shu, et al. General anesthetics induce apoptotic neurodegeneration in the neonatal rat spinal cord. *Anesth Analg*, 2008;106:1708-11.
- [70] Jevtovic-Todorovic, V., R.E. Hartman, Y. Izumi, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci*, 2003;23:876-82.
- [71] Lu, L.X., J.H. Yon, L.B. Carter, et al. General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain. *Apoptosis*, 2006;11:1603-15.
- [72] Head, B.P., H.H. Patel, I.R. Niesman, et al. Inhibition of p75 neurotrophin receptor attenuates isoflurane-mediated neuronal apoptosis in the neonatal central nervous system. *Anesthesiology*, 2009;110:813-25.
- [73] Fredriksson, A., E. Ponten, T. Gordh, et al. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-D-aspartate and gamma-aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. *Anesthesiology*, 2007;107:427-36.
- [74] Vutskits, L., E. Gascon, G. Potter, et al. Low concentrations of ketamine initiate dendritic atrophy of differentiated GABAergic neurons in culture. *Toxicology*, 2007;234:216-26.
- [75] Cattano, D., C. Young, M.M. Straiko, et al. Subanesthetic doses of propofol induce neuroapoptosis in the infant mouse brain. *Anesth Analg*, 2008;106:1712-4.
- [76] Zhang G, Dong Y, Zhang B, Ichinose F, Wu X, Culley DJ, Crosby G, Tanzi RE, Xie Z. Isoflurane-induced caspase-3 activation is dependent on cytosolic calcium and can be attenuated by memantine. *J Neurosci*. 2008; 28 : 4551-60.
- [77] Jevtovic-Todorovic, V., C.O. Kirby and J.W. Olney. Isoflurane and propofol block neurotoxicity caused by MK-801 in the rat posterior cingulate/retrosplenial cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997;17:168-74.
- [78] Cattano, D., Williamson, K. Fukui, et al. Potential of xenon to induce or to protect against neuroapoptosis in the developing mouse brain. *Can J Anaesth*, 2008;55:429-36.
- [79] Wei, H., G. Liang, H. Yang, et al. The common inhalational anesthetic isoflurane induces apoptosis via activation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Anesthesiology*, 2008;108:251-60.
- [80] Maas, J.W., Jr., R.A. Indacochea, L.M. Muglia, et al. Calcium-stimulated adenylyl cyclases modulate ethanol-induced neurodegeneration in the neonatal brain. *J Neurosci*, 2005;25:2376-85.
- [81] Bourgeois, J.P. [Brain synaptogenesis and epigenesis]. *Med Sci (Paris)*, 2005;21:428-33.
- [82] Aimone, J.B., J. Wiles and F.H. Gage. Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories. *Nat Neurosci*, 2006;9:723-7.
- [83] Vutskits, L., M. De Roo, Kalauser, et al. Anesthetics impair dendritic spine development in the postnatal mouse somatosensory cortex. in *Annual Congress of Anesthesiologists*. 2008. Orlando.
- [84] Sall, J.W., G. Stratmann, J. Leong, et al. Isoflurane inhibits growth but does not cause cell death in hippocampal neural precursor cells grown in culture. *Anesthesiology*, 2009;110:826-33.
- [85] Jevtovic-Todorovic, V. and L.B. Carter. The anesthetics nitrous oxide and ketamine are more neurotoxic to old than to young rat brain. *Neurobiol Aging*, 2005;26:947-56.
- [86] Wang, C., N. Sadovova, C. Hotchkiss, et al. Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors by ketamine produces loss of postnatal day 3 monkey frontal cortical neurons in culture. *Toxicol Sci*, 2006;91:192-201.
- [87] Slikker, W., Jr., X. Zou, C.E. Hotchkiss, et al. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey. *Toxicol Sci*, 2007;98:145-58.
- [88] Zou, X., T.A. Patterson, R.L. Divine, et al. Prolonged exposure to ketamine increases neurodegeneration in the developing monkey brain. *Int J Dev Neurosci*, 2009;27:727-31.
- [89] Meunier, J.C., C. Mollereau, L. Toll, et al. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature*, 1995;377:532-5.
- [90] Laudenbach, V., G. Calo, R. Guerrini, et al. Nociceptin/orphanin FQ exacerbates excitotoxic white-matter lesions in the murine neonatal brain. *J Clin Invest*, 2001;107:457-66.

- [91] Meriney, S.D., M.J. Ford, D. Oliva, et al. Endogenous opioids modulate neuronal survival in the developing avian ciliary ganglion. *J Neurosci*, 1991;11:3705-17.
- [92] Meriney, S.D., D.B. Gray and G. Pilar. Morphine-induced delay of normal cell death in the avian ciliary ganglion. *Science*, 1985;228:1451-3.
- [93] Sato, Y., N. Seo and E. Kobayashi. Genetic background differences between FVB and C57BL/6 mice affect hypnotic susceptibility to pentobarbital, ketamine and nitrous oxide, but not isoflurane. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2006;50:553-6.
- [94] Gressens, P., J. Dingley, F. Plaisant, et al. Analysis of neuronal, glial, endothelial, axonal and apoptotic markers following moderate therapeutic hypothermia and anesthesia in the developing piglet brain. *Brain Pathol*, 2008;18:10-20.
- [95] Olney, J.W., C. Young, D.F. Wozniak, et al. Anesthesia-induced developmental neuroapoptosis. Does it happen in humans? *Anesthesiology*, 2004;101:273-5.
- [96] Zou, X., N. Sadovova, T.A. Patterson, et al. The effects of L-carnitine on the combination of, inhalation anesthetic-induced developmental, neuronal apoptosis in the rat frontal cortex. *Neuroscience*, 2008;151:1053-65.
- [97] McClaine, R.J., K. Uemura, S.G. de la Fuente, et al. General anesthesia improves fetal cerebral oxygenation without evidence of subsequent neuronal injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005;25:1060-9.
- [98] Ward, C., H. Wei, G. Liang, et al., Neonatal exposure to isoflurane does not cause learning deficits in the developing mouse brain. , in American Society of Anesthesiologists annual meeting 2008: Orlando, USA.
- [99] Loepke, A.W., G.K. Istaphanous, J.J. McAuliffe, 3rd, et al. The effects of neonatal isoflurane exposure in mice on brain cell viability, adult behavior, learning, and memory. *Anesth Analg*, 2009;108:90-104.
- [100] Anand, K.J., S. Garg, C.R. Rovnaghi, et al. Ketamine reduces the cell death following inflammatory pain in newborn rat brain. *Pediatr Res*, 2007;62:283-90.
- [101] Sandi, C. Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nat Rev Neurosci*, 2004;5:917-30.
- [102] Loepke, A.W., J.C. McCann, C.D. Kurth, et al. The physiologic effects of isoflurane anesthesia in neonatal mice. *Anesth Analg*, 2006;102:75-80.
- [103] Stratmann, G., L.D. May, J.W. Sall, et al. Effect of hypercarbia and isoflurane on brain cell death and neurocognitive dysfunction in 7-day-old rats. *Anesthesiology*, 2009;110:849-61.
- [104] Yon, J.H., J. Daniel-Johnson, L.B. Carter, et al. Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. *Neuroscience*, 2005;135:815-27.
- [105] Ma, D., Williamson, A. Januszewski, et al. Xenon mitigates isoflurane-induced neuronal apoptosis in the developing rodent brain. *Anesthesiology*, 2007;106:746-53.
- [106] Kain, Z.N., J.E. MacLaren, L. Herrmann, et al. Preoperative melatonin and its effects on induction and emergence in children undergoing anesthesia and surgery. *Anesthesiology*, 2009;111:44-9.
- [107] Yon, J.H., L.B. Carter, R.J. Reiter, et al. Melatonin reduces the severity of anesthesia-induced apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain. *Neurobiol Dis*, 2006;21:522-30.
- [108] Soriano, S.G., J.R. Liu, Q. Liu, et al. Dexmedetomidine Is Less Pro-Apoptotic Than Ketamine in the Neonatal Rat Brain. in Annual Congress of Anesthesiologists. 2009. New Orleans (USA).
- [109] Sanders, R.D., J. Xu, Y. Shu, et al. Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced neurocognitive impairment in neonatal rats. *Anesthesiology*, 2009;110:1077-85.
- [110] Marchand, J.E., M.H. Askenase and P.M. Bokesch. In Neonatal Rat Pups Ketamine, but Not Dexmedetomidine, Induces Degeneration in Anterior Thalamus. in Annual Congress of Anesthesiologists. 2009. New Orleans (USA).
- [111] Zhang, G., Y. Dong, B. Zhang, et al. Isoflurane-induced caspase-3 activation is dependent on cytosolic calcium and can be attenuated by memantine. *J Neurosci*, 2008;28:4551-60.
- [112] Koren, G., A. Pastuszak and S. Ito. Drugs in pregnancy. *N Engl J Med*, 1998;338.
- [113] Meador, K.J., G.A. Baker, N. Browning, et al. Cognitive function at 3 years of age after fetal exposure to antiepileptic drugs. *N Engl J Med*, 2009;360:1597-605.
- [114] Sprung, J., R.P. Flick, R.T. Wilder, et al. Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*, 2009;111:302-10.

- [115] Forbess, J.M., K.J. Visconti, C. Hancock-Friesen, et al. Neurodevelopmental outcome after congenital heart surgery: results from an institutional registry. *Circulation*, 2002;106:195-102.
- [116] Schulzke, S.M., G.C. Deshpande and S.K. Patole. Neurodevelopmental outcomes of very low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis: a systematic review of observational studies. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2007;161:583-90.
- [117] Paradise, J.L., H.M. Feldman, T.F. Campbell, et al. Tympanostomy tubes and developmental outcomes at 9 to 11 years of age. *N Engl J Med*, 2007;356:248-61.
- [118] Wilder, R.T., R.P. Flick, J. Sprung, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*, 2009;110:796-804.
- [119] Kopp, V.J. Hyperoxia in pediatric anesthesia: time for reconsideration? *Anesthesiology*, 2009;111:1383; author reply 1383-4.
- [120] Cote, C.J. Learning disability and repeated anesthetics: drugs or airway management issues? *Anesthesiology*, 2009;111:1379-80; author reply 1384-6.
- [121] Girard, S., H. Kadhim, M. Roy, et al. Role of perinatal inflammation in cerebral palsy. *Pediatr Neurol*, 2009;40:168-74.
- [122] Kalkman, C.J., L. Peelen, K.G. Moons, et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure. *Anesthesiology*, 2009;110:805-12.
- [123] Anand, K.J., R.W. Hall, N. Desai, et al. Effects of morphine analgesia in ventilated preterm neonates: primary outcomes from the NEOPAIN randomised trial. *Lancet*, 2004;363:1673-82.
- [124] Hall, R.W., S.S. Kronsberg, B.A. Barton, et al. Morphine, hypotension, and adverse outcomes among preterm neonates: who's to blame? Secondary results from the NEOPAIN trial. *Pediatrics*, 2005;115:1351-9.
- [125] Simons, S.H., M. van Dijk, R.A. van Lingen, et al. Routine morphine infusion in preterm newborns who received ventilatory support: a randomized controlled trial. *Jama*, 2006;290:2419-27.
- [126] Roze, J.C., S. Denizot, R. Carbajal, et al. Prolonged sedation and/or analgesia and 5-year neurodevelopment outcome in very preterm infants: results from the EPIPAGE cohort. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2008;162:728-33.
- [127] Davidson, A.J., M.E. McCann, N.S. Morton, et al. Anesthesia and outcome after neonatal surgery: the role for randomized trials. *Anesthesiology*, 2008;109:941-4.
- [128] Hansen, T.G. and R. Flick. Anesthetic effects on the developing brain: insights from epidemiology. *Anesthesiology*, 2009;110:1-3.
- [129] Sun, L.S., G. Li, C. Dimaggio, et al. Anesthesia and neurodevelopment in children: time for an answer? *Anesthesiology*, 2008;109:757-61.
- [130] Bhananker SM, Ramamoorthy C, Geiduschek JM, et al. Anesthesia-related cardiac arrest in children: update from the Pediatric Perioperative Cardiac Arrest Registry. *Anesth.Analg.* 2007; 105: 344-50
- [131] Tay C, Tan G, NG S: Critical incidents in paediatric anaesthesia: an audit of 10 000 anaesthetics in Singapore. *Paediatr Anaesth* 2001; 11: 711-8