

дился повторный визуальный контроль. Выведение животных из эксперимента запланировано через 6 мес. после проведенного хирургического этапа. Полученные результаты данного экспериментального исследования позволят нам найти ответы на следующие вопросы:

1. Способны ли эпителиальные ткани у взрослых особей менять свой морфотип после пересадки соединительнотканного трансплантата из области с другим строением вышележащего эпителия.

2. Возможна ли перестройка соединительнотканного трансплантата, фиксированного на открытую периостальную поверхность с последующим формированием слизистой оболочки, сходной по строению с таковой в донорском участке на небе, или же трансплантат замещается рубцовыми тканями, которые из-за своей плотности создают обманчивое визуальное впечатление кератинизированной слизистой.

3. Возможно ли сохранение соединительнотканного трансплантата своего строения через 6 мес. после трансплантации.

Experimental modeling to assess the possibility of changing the morphological type of the oral mucosa

B.S. Smbatyan, G.D. Kapanadze, M.V. Lomakin, A.S. Aleinikov,
G.M. Ozharovsky, N.A. Polevova, L.T. Khutsishvili

In the experiment, the mini-pigs using different methods carried plastic alveolar mucosa to form a keratinized attached mucosa and to determine what methods are shown in various clinical situations.

Key words: experiment, mini-pigs, modeling, mucosa.

Список литературы

1. *Грудянов А.И., Ерохин А.И.* Хирургические методы лечения заболеваний пародонта // Изд. Медицинское информационное агенство. 2006. С. 82-90.

2. *Лапина С.Л.* Контурная пластика альвеолярного отростка соединительнотканым трансплантатом // Канд. диссер. 2009. С. 20-21.

3. *Edel A.* Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva// Journal of Clinical Periodontology. 1974. 1. P. 185-196.

4. *Cairns J.M., Saunders J.W.* The influence of embryonic mesoderm on the regional specification of epidermal derivatives in the chick // Journal of Experimental Zoology. 1954. Vol. 127. P. 221-248.

5. *Karring T., Osteogaard E., Loe H.* Conservation of tissue specificity after heterotopic transplantation of gingiva and alveolar mucosa// Journal of periodontic restorations. 1971. 6. P. 282-293.

Модификация токсического действия циклофосфана ацетатом аммония на крыс

Т. В. Шефер

НИИЦ (МБЗ) ФГУ «ГосНИИИ ВМ Минобороны России», Санкт-Петербург

Контактная информация: Шефер Тимур Васильевич schafer@yandex.ru

Определены динамика содержания аммиака, глутамина и мочевины в крови крыс после внутрибрюшинного введения циклофосфана (600 мг/кг) на фоне внутрижелудочного введения ацетата аммония в нелетальной дозе 12 ммоль/кг (0,4 ЛД₅₀), клинические проявления интоксикации и продолжительность жизни крыс после введения циклофосфана в дозах 200, 600, 1000 или 1400 мг/кг per se, либо в сочетании с ацетатом аммония. Введение ацетата аммония усиливало азотемический эффект циклофосфана. Сочетанное действие токсикантов сопровождалось симптомами, характерными для острого отравления солями аммония; при изолированном действии ацетата аммония эти симптомы не наблюдались. Ацетатом аммония усиливался летальный эффект циклофосфана, вводимого в дозах 200, 600, 1000 или 1400 мг/кг: средняя продолжительность жизни крыс снижалась в 1,5; 2,1; 2,8 или 6,1 раз соответственно. Полученные данные свидетельствуют о том, что перераспределение аммиака из пищеварительного тракта в общий кровоток является одним из механизмов танатогенеза при острой интоксикации циклофосфаном.

Ключевые слова: крысы, циклофосфан, ацетат аммония, аммиак крови, средняя продолжительность жизни.

Высокодозовая цитостатическая терапия β-галогенированными алкиламидами сопровождается нейротоксическими эффектами [5]; другими побочными эффектами являются гепатотоксичность [3] и энтеротоксичность [2]. Нарушение барьерной функции печени и кишечного эпителия может вести к увеличению потока аммиака из просвета желудочно-кишечного тракта в кровь и формированию гипераммониемии, а нейротоксическое действие аммиака способно усугубить побочные эффекты цитостатиков и снизить порог их непереносимости.

Целью исследования явилась оценка роли люминального пула аммиака желудочно-кишечного тракта в реализации токсического действия циклофосфана на крыс.

Материалы и методы

Исследования проводили на самцах беспородных крыс-альбиносов массой 200–240 г, приобретённых в питомнике Рапполово АМН РФ. В течение суток перед использованием в эксперименте животных не кормили при неограниченном доступе к воде. Число животных в каждой из экспериментальных групп составляло шесть, исключая определение средней продолжительности жизни (СПЖ), где число крыс составляло 11 на каждую дозу циклофосфана.

Ацетат аммония (АА) вводили однократно в/ж в виде водного раствора в дозе 12 ммоль/кг (0,35 ЛД₅₀). Циклофосфан растворяли в дистиллированной воде ex tempore и вводили однократно тотчас после АА в/б в дозах 200, 600,

1000 или 1400 мг/кг, соответствовавших величинам СПЖ, предварительно установленным для крыс этой же серии, 240, 51, 13 и 2 ч. Каждый токсикант вводили в объеме 10 мл/кг. Контрольные животные вместо циклофосфана получали воду, а вместо АА – эквивалентное количество ацетата натрия (АН).

Для определения азотистых метаболитов кровь немедленно депротеинировали 10%-ной трихлоруксусной кислотой. Аммиак определяли с реактивом Несслера [1]. Содержание глутамина рассчитывали по возрастанию концентрации аммиака в пробах после 10-минутного гидролиза при 100°C в присутствии 0,3 М H₂SO₄ [4]. Мочевину определяли с диацетилмонооксимом, используя наборы реактивов ООО «Ольвекс Диагностикум» (Россия).

В 1-й серии экспериментов оценивали влияние циклофосфана на обмен аммиака на фоне увеличенного пула аммиака в просвете желудочно-кишечного тракта. Аммиак, глутамин и мочевину определяли в крови, полученной из туловища крыс через 0,5; 1,5 или 3 ч после введения АА и (или) циклофосфана (600 мг/кг). Рассчитывали уровень азотемии (сумма концентраций аммиака, амидного азота глутамина и азота мочевины).

Во 2-й серии экспериментов выявляли клиническое значение обнаруженных изменений обмена аммиака. Для этого оценивали влияние АА на симптоматику интоксикации, вызванной введением циклофосфана в дозах 200, 600, 1000 или 1400 мг/кг, и на продолжительность жизни животных.

Значимость межгрупповых различий средних величин содержания метаболитов в крови оценивали с помощью апостериорного критерия наименьших значимых различий Фишера, межгруп-

повых различий СПЖ – с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

Изолированное введение интактным крысам АА не сопровождалось какими-либо клиническими проявлениями токсичности. Введение циклофосфана в дозе 200 мг/кг заметно не влияло на поведение животных в течение 18 ч; при дозе 600 мг/кг в эти сроки, начиная с 0,5 ч после введения циклофосфана, прогрессируют сомноленция и ступор. Циклофосфан в дозах 1000 или 1400 мг/кг вызывал тремор, потерю постурального и аудиомоторного рефлексов в течение 3 ч; в сроки 1–6 ч эпизодически возникали тонические судороги. Видимых признаков интоксикации не было в ближайшие 0,5 ч после введения циклофосфана в любой из испытанных доз, кроме 1400 мг/кг.

Через 0,5–3 ч после введения циклофосфана и (или) АА уровень аммиака, глутамина, мочевины в крови и азотемии был повышен. На фоне совместного применения токсикантов уровень аммиака в крови возрастал в 2,3 раза, в сравнении с контролем, в то время как на фоне изолированного применения циклофосфана такой уровень достигался на 1,5–2,5 ч позже. Повышение уровня аммиака в крови через 1,5 ч, а мочевины и азотемии – через 0,5 и 3 ч после совместного применения АА и циклофосфана было более существенным, чем при изолированном применении циклофосфана (рис. 1).

Премедикация нелетальной дозой АА усугубляла токсическое действие циклофосфана: у крыс, получивших циклофосфан в дозах 200, 600, 1000 или 1400 мг/кг, на фоне введения АА СПЖ была в 1,5, 2,1, 2,8 или 6,1 раза меньше, чем при введении циклофосфана в сочетании с АН (рис. 2).

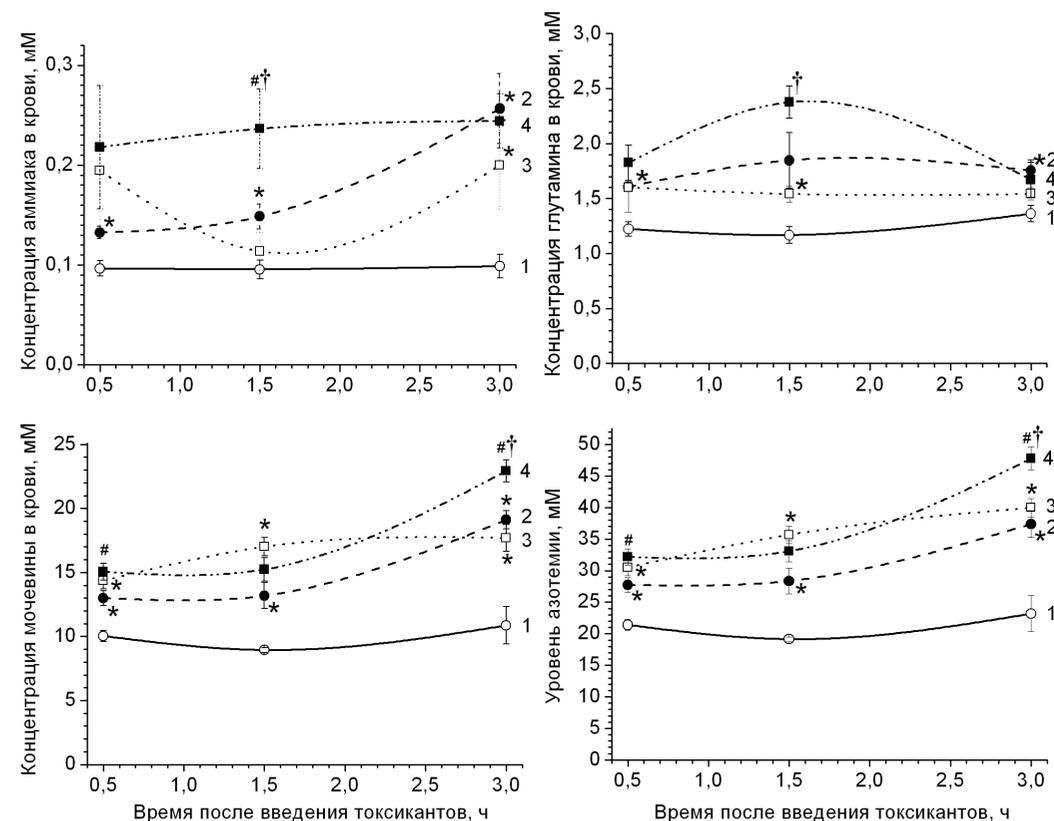


Рис. 1. Содержание аммиака, глутамина, мочевины в крови и уровень азотемии (сумма концентраций аммиака, амидного азота глутамина и азота мочевины) у крыс ($M \pm m$, $n = 6$) после внутрибрюшинного введения циклофосфана в дозе 600 мг/кг и (или) внутривентрикулярного введения ацетата аммония в дозе 12 ммоль/кг. 1 – контроль; 2 – циклофосфан; 3 – ацетат аммония; 4 – ацетат аммония и циклофосфан.

* – значимое различие с контрольной группой, $p \leq 0,05$; † – значимое различие с группой «ацетат аммония», $p \leq 0,05$; # – значимое различие с группой «циклофосфан», $p \leq 0,05$.

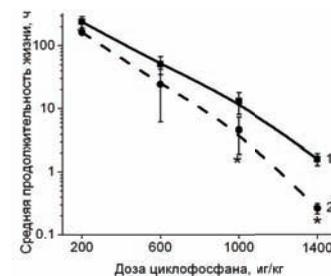


Рис. 2. Влияние внутривентрикулярного введения ацетата аммония в дозе 12 ммоль/кг на среднюю продолжительность жизни крыс ($M \pm m$, $n = 11$) после последующего внутрибрюшинного введения циклофосфана в дозах 200–1400 мг/кг. 1 – контроль; 2 – ацетат аммония. * – значимое различие с контрольной группой, $p \leq 0,05$

Премедикация нелетальной дозой АА усугубляла токсическое действие циклофосфана: у крыс, получивших циклофосфан в дозах 200, 600, 1000 или 1400 мг/кг, на фоне введения АА СПЖ была в 1,5, 2,1, 2,8 или 6,1 раза меньше, чем при введении циклофосфана в сочетании с АН (рис. 2).

У животных, получавших циклофосфан в сочетании с АА, проявлялись симптомы, характерные для отравления солями аммония – экзофтальм, транзиторное возбуждение, крупный тремор, сменяющийся опистотонусом и апноэ.

Выводы

1. Увеличение люминального пула аммиака пищеварительного тракта крыс усугубляет азотемический и токсический эффекты циклофосфана, вызывая появление у отравленных циклофосфаном животных симптомов, характерных для острого отравления солями аммония и сокращая продолжительность их жизни.

2. Полученные данные свидетельствуют о неблагоприятной роли аммиака желудочно-кишечного происхождения в патогенезе острой тяжёлой интоксикации циклофосфаном.

Список литературы

1. **Barrett J. F.** A modified Nessler's reagent for the micro-determination of urea in tungstic acid blood filtrate / J.

F. Barrett // *Biochem. J.* 1935. Vol. 29. P. 2442-2445.

2. **Haubitz M.** Acute and long-term toxicity of cyclophosphamide / M. Haubitz // *Transplantationsmedizin.* 2007. Vol. 19. P. 26-31.

3. **McDonald G. B.** Cyclophosphamide metabolism, liver toxicity, and mortality following hematopoietic stem cell transplantation / G. B. McDonald, J. T. Slattery, M. E. Bouvier [et al.] // *Blood.* 2003. Vol. 101. P. 2043-2048.

4. **Whitehead T. P.** A method for the determination of glutamine in cerebrospinal fluid and the results in hepatic coma / T. P. Whitehead, S. R. F. Whittaker // *J. Clin. Path.* 1955. Vol. 8. P. 81-84.

5. **Wolfgang G. H. J.** Antineoplastic agents / G. H. J. Wolfgang, M. E. I. Leibbrandt // In: *Comprehensive toxicology*, Vol. 7. – Cambridge: Cambridge University Press. 1997. P. 525-547.

Modification of cyclophosphamide toxicity in rat by ammonium acetate

T.V. Shefer

The dynamics of blood ammonia, glutamine and urea level, symptoms of toxic action and the survival time have been studied in rats, intraperitoneally treated with cyclophosphamide, at the background of the gavage with non-lethal dose of ammonium acetate (12 mmol/kg, i. e. 0.35 LD50). Ammonium acetate enhanced the azotaemic action of cyclophosphamide while promoting its lethal action: the mean survival time decreased 1.5, 2.1, 2.8, or 6.1 times at the background of cyclophosphamide i/p doses 200, 600, 1000, or 1400 mg/kg, respectively. Animals exposed to the combination of toxicants, manifested symptoms which were characteristic of the effect of lethal doses of ammonia salts. These data provide the evidence of the detrimental role of gastrointestinal luminal ammonia in the acute high-dose cyclophosphamide toxicity.

Key words: rats, cyclophosphamide, ammonium acetate, blood ammonia, blood urea, mean survival time.

Модель направленного изменения в закладке коры мозга в эмбриогенезе у мышей для изучения постнатальных нарушений развития

А.В. Лобанов, А.Н. Родионов, Е.А. Туховский, А.Н. Мурашев

Филиал учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, Пуцинский государственный университет, Пуццо

Контактная информация: д.м.н. Аркадий Николаевич Мурашев murashev@fibkh.serpukhov.su

Создание экспериментальных биологических моделей, сочетающих определенность механизмов поражения и их направленность при воздействии на мозг, – актуальная задача экспериментальной нейробиологии и нейрофизиологии. В данной работе изучались особенности формирования поведения в постнатальном периоде у мышей линии C57BL/6, у которых вызывали направленное нарушение закладки коры на раннем и позднем этапах пренатального кортикогенеза при помощи антипролиферативного агента цитозинарабинозы (Ara-c). Исследованная модель впервые позволила охарактеризовать взаимосвязи между вызванными изменениями в закладке коры и сдвигами в формировании поведенческого фенотипа в постнатальном периоде развития. Выявленные изменения характеризуют специфическую роль клеточного обеспечения коры в формировании поведенческих актов в постнатальном периоде развития у мышей и определяются этапами наибольшей восприимчивости организма к нарушению морфогенеза коры.

Ключевые слова: модель нарушения кортикогенеза, постнатальное развитие, поведение, мыши.

Формирование головного мозга млекопитающих происходит в течение продолжительного пренатального и постнатального периодов, в результате чего возникают упорядоченные клеточные структуры со строго специфическими связями [2, 6]. Сдвиги в процессах нейрогенеза, миграции клеток и их дифференцировки, происходящие в результате воздействия внутренних и внешних факторов в определённые критические периоды пренатального развития животных, приводят к структурно-функциональным изменениям в развитии мозга [12, 15]. Изменение поведенческих реакций в дальнейшем онтогенезе является их следствием [13]. Специфика изменений в поведении может характеризоваться двигательными, когнитивными, эмоциональными расстройствами и определяется сроками и силой воздействия повреждающих фак-

торов на развивающийся мозг [3]. Однако механизмы возникновения нарушений развития мозга, без знания которых невозможна разработка профилактики двигательных и ментальных нарушений, особенно в ранний постнатальный период, пока еще недостаточно изучены.

Актуальной задачей нейробиологии является создание моделей, позволяющих устанавливать взаимосвязь между вызванными изменениями в развитии мозга и, как следствие, – в развитии поведенческого фенотипа. Несмотря на большое разнообразие тератогенных веществ, влияющих на формирование мозга животных, для создания таких моделей в первую очередь используются вещества, обладающие цитотоксическим эффектом. В частности, цитозинарабиноза (Ara-c) является одним из наиболее сильных антипролиферативных агентов, влияющим на процессы нейрогенеза в сроки его введения [15].