

*Касенов Б.Ж.*

**КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ ПРИ ПРИНУДИТЕЛЬНОМ ПЛАВАНИИ НА ФОНЕ ОТРАВЛЕНИЯ КОМБИНАЦИЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

*B.Zh. Kasenov*

**CELLULAR THERAPY OF INFRINGEMENTS OF BEHAVIOUR AT COMPULSORY NAVIGATION ON A POISONING WITH A COMBINATION OF HEAVY METALS**

УДК: 569.323.4:611-018:615.777,9-099:591.173

*Введение оксида кадмия в дозе 1 мг/кг и ацетата свинца в дозе 10 мг/кг м.т. привело к укорочению времени активного плавания и увеличению периода неподвижности в тесте принудительного плавания. Терапия клеточной взвесью эмбриональных нейронов на фоне интоксикации тяжелыми металлами, оказала выраженный корригирующий эффект на состояние животных при принудительном плавании.*

**Ключевые слова:** кадмий, свинец, активное плавание, период неподвижности, принудительное плавание

*Introduction cadmium oxide in a doze of 1 mg/kg and acetate of lead in a doze of 10 mg/kg w.b. has led to shortening time of active navigation and increase in the period of an immovability in the test of compulsory navigation. Therapy cellular suspension embryo neurons on a background of an intoxication heavy metals, has rendered expressed correction effect on a condition of animals at compulsory navigation.*

**Key words:** cadmium, lead, active navigation, the period of an immovability, compulsory navigation.

**Введение.**

Разработке методов клеточной терапии способствует повсеместно усиливающийся дефицит донорских органов и высокая себестоимость трансплантации, опасность развития осложнений, а также чрезвычайно высокий процент инвалидизации и гибели больных от хронических заболеваний жизненно важных органов. Клеточная трансплантация обладает рядом преимуществ по сравнению с органной: метод имеет более низкую себестоимость, безопасен, позволяет обеспечить медицинской помощью большее число больных, а также отказаться полностью или использовать слабые иммуносупрессивные препараты [1].

Как способ лечения постренимационных нарушений, метод введения фетальных нейроцитов хорошо зарекомендовал себя у отечественных ученых [2,3]. Клеточная терапия фетальными нейроцитами ускоряет темп восполнения неврологического дефицита в раннем постренимационном периоде [4]. Обнаружено, что у реанимированных крыс на фоне терапии фетальными нейроцитами улучшаются процессы формирования селективного внимания [5,6], а при состояниях связанных с гибелью нейронов данный

метод представляет большие возможности [7,8,9]. Улучшаются показатели оценки ориентировочно-исследовательской реакции у крыс после реанимационных изменений [10]. После применения трансплантации изолированных культур клеток, резко снижается летальность у реанимированных животных [11]. Описано положительное влияние трансплантации фетальных нервных клеток в лечении отдаленных последствий экспериментальной черепно- мозговой травмы, в результате чего снижается и летальность в отдаленном посттравматическом периоде [12].

Позитивное влияние клеточной терапии при состояниях сопровождающихся необратимой гибелью нейронов предопределило использование данного метода для коррекции нарушений поведения развивающихся при отравлении животных комбинацией тяжелых металлов.

**Цель исследования.**

Выявить влияние солей кадмия и свинца при комбинированном введении на поведение крыс в тесте принудительного плавания и провести коррекцию нарушений при помощи клеточной терапии.

**Материал и методы исследования.**

Опыты проведены на белых беспородных крысах-самцах, м.т. 180-220 гр. Животные были разделены на семь серий количеством 10 голов в каждой (таблица 1).

Таблица 1

Серии животных

№	Серии
1	Интактные
2	Трепанация черепа
3	2 нед. физ. р-р ч/з зонд в/ж + трепанация черепа
4	Физ. р-р 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + физ. р-р в III желудочек мозга
5	Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа
6	Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + физ. р-р в 111 желудочек мозга
7	Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + клеточная взвесь эмбриональных нейронов в 111 желудочек мозга

Металлы вводили последовательно, раздельно по 1 мг/кг м.т. оксид кадмия и ацетат свинца 10 мг/кг в течение 2<sup>x</sup> недель. Коррекция проводилась после первой недели затравки. Для проведения клеточной терапии предварительно шерсть животного на голове выбривали. Животному осуществлялся вводный наркоз хлороформом, базисный наркоз проводился Раметаром в дозах рекомендуемых инструкцией для наркотизирования мелких животных. Голова животного жестко закреплялась фиксаторами. С учетом стереотаксических данных определяли проекцию расположения III желудочка мозга [13]. Трепанацию черепа производили стоматологическим бором, от линии Interaural 7,7 мм и Bregma 1,3 мм (рисунок 1).

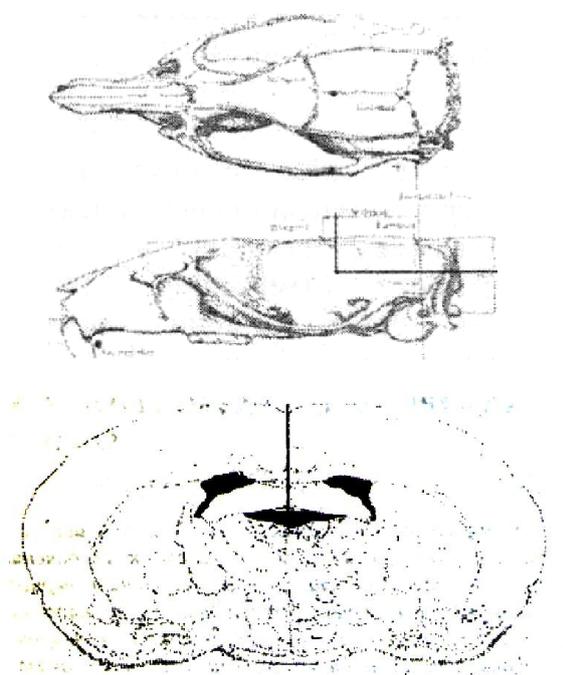


Рисунок 1 - Строение черепа крыс со стереотаксическими координатами

15-20 дневных эмбрионов крыс извлекали из полости матки, отсекали голову и погружали её в жидкий азот, затем продольным разрезом делили на две части и извлекали ткань передней части головного мозга. Ткань измельчали на кусочки объёмом 1 мм<sup>3</sup> и полученную массу путем добавления физиологического раствора длительным пипетированием доводим до клеточной взвеси. Все процедуры проводились при низкой температуре. Инсулиновым шприцом со специально тупо заточенной иглой с пластмассовой насадкой ограничивающей проникновение на глубину 4,5 мм, вводим клеточную взвесь в трепанационное отверстие на фиксированную глубину 4,5 мм в III желудочек мозга в объеме 0,1мл (рисунок 2). Трепанационное отверстие закрывают стоматоло-

гическим цементом, края раны обрабатывают бриллиантовым зеленым.

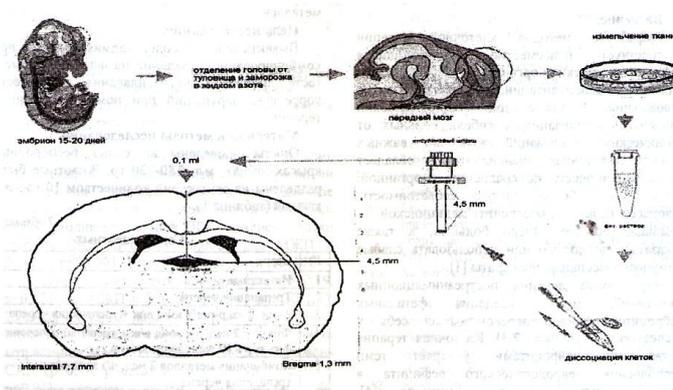


Схема подготовки нервной ткани эмбрионов крысы к трасгштантации

Рисунок 2 - Схема подготовки нервной ткани

Тест Порсолта или принудительного плавания является самым распространенным лабораторным тестом, по которому оценивают эмоциональное состояние депрессивности у животных [14].

Все результаты представлены в виде средней и ошибки средней. Статистическую обработку данных проводили с помощью методов непараметрической статистики, по U критерию Манна-Уитни. Был принят уровень достоверности различий  $p < 0,05$  [15].

Результаты исследования и обсуждение. Десять интактных животных активно плавали в течение  $128 \pm 2,65$  сек, период неподвижности в воде был у них  $111,9 \pm 3,68$  сек. (таблица 2). Создание трепанационного отверстия, введение физ. раствора ч/з зонд в/ж не повлияли на продолжительность времени активного плавания и периода неподвижности. После введения физ. р-ра в III желудочек мозга несколько сократилось время активного плавания  $110,7 \pm 2,79$  сек, причем продолжительность периода неподвижности была в диапазоне времени интактных крыс  $114,3 \pm 3,02$  сек.

Резкое удлинение периода неподвижности наблюдалось у животных которым вводили комбинацию металлов сопровождаемую созданием трепанационного отверстия ( $175,5 \pm 2,4$  сек). Введение физ. р-ра в III желудочек мозга таким животным не оказало влияния на продолжительность периода иммобильности ( $177,6 \pm 3,7$  сек). Сокращение отрезка времени активного плавания наблюдалось после 2 недельного введения комбинации тяжелых металлов как при введении физ. раствора в III желудочек мозга  $60,4 \pm 1,72$  сек, так и при создании трепанационного отверстия  $63,5 \pm 2,08$  сек.

Использование введения клеточной взвеси эмбриональных нейронов в III желудочек мозга, в качестве корректирующей терапии, оказало выраженный эффект на способность животных

активно плавать  $96,4 \pm 3,76$  сек, вместе с этим укоротился период неподвижности до  $130,5 \pm 5,3$  сек. При сравнении с результатами полученными у интактных животных, период неподвижности также как и время активного плавания имели значительную разницу. Однако период иммобильности существенно стал короче, чем у крыс получавших металлы, и время активного плавания возросло.

В ответ на неизбежный стресс в виде принудительного плавания, на фоне введения тяжелых металлов быстрее развивается депрессивное состояние у животных. При этом крысы затравленные металлами по сравнению с интактными раньше перестают сопротивляться условиям эксперимента и быстрее переходят в состояние неподвижности. Введение клеточной взвеси эмбриональных нейронов в III желудочек мозга частично устраняло депрессивное состояние индуцированное принудительным плаванием на фоне отравления кадмием и свинцом, что проявилось в снижении продолжительности периода иммобильности и увеличении отрезка времени в течение которого животные плавали.

Таблица 2

Поведение крыс в тесте Порсолта (сек.)

Серии	Период неподвижности	Активное плавание
Интактные	$111,9 \pm 3,68$	$128,3 \pm 2,65$
Трепанация черепа	$106,4 \pm 3,13$	$127 \pm 3,37$
Физ. р-р 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа	$104,8 \pm 2,59$	$124,6 \pm 1,93$
Физ. р-р 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + физ. р-р в III желудочек мозга	$114,3 \pm 3,02$	$110,7 \pm 2,79$
Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа	$175,5 \pm 2,4^*$	$63,5 \pm 2,08^*$
Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + физ. р-р в III желудочек мозга	$177,6 \pm 3,7^*$	$60,4 \pm 1,72^*$
Комбинация металлов 2 нед. ч/з зонд в/ж + трепанация черепа + клеточная взвесь эмбриональных нейронов в III желудочек мозга	$130,5 \pm 5,3^{(**)}$	$96,4 \pm 3,76^{(**)}$
Примечание: - достоверность различий по сравнению с интактными * $p < 0,05$ , с затравленными металлами ** $p < 0,05$		

**Заключение.** Таким образом, по всей видимости, поступление в организм животных комбинации солей кадмия и свинца приводит к некоторым изменениям в функционировании нервной системы, что проявляется развитием состояния рассматриваемого как депрессивное. Клеточная терапия использованная как метод

лечения нарушений поведения крыс в среде с неизбежным стрессом в виде принудительного плавания оказала корригирующее влияние. Однако представленное предположение требует дальнейших исследований и нуждается в детальном анализировании и оценке, для обоснования механизмов действия эмбриональных клеток в эксперименте.

**Выводы:**

1. Комбинированное введение оксида кадмия в дозе 1 мг/кг и ацетата свинца в дозе 10 мг/кг м.т. привело к значительному увеличению периода неподвижности, и уменьшению времени активного плавания.

2. Клеточная терапия на фоне затравки комбинацией кадмия и свинца оказала корригирующее влияние на состояние животных в тесте принудительного плавания.

**Литература:**

1. Онищенко Н.А. Клеточные технологии и современная медицина. Патологическая физиология и экспериментальная терапия - 2004. - №4. - С. 2-11.
2. Тажибаева Д.С. Влияние фетальных спленцитов на показатели интегративной деятельности реанимированных крыс. Астана медициналык журналы - 2004. - №4. - С.109-111.
3. Тажибаева Д.С., Кабдуалиева Н.Б. Фетальная терапия постреанимационных нарушений функций центральной нервной системы у крыс. Астана медициналык журналы - 2005. - №1. - С. 101-103.
4. Айтбаева Ж.Б., Бегларова Г.Е., Тимури Д.Н., Торопеев А.В., Соболева А.А. Терапия фетальными нейрочитами и динамика показателя общего состояния у 1,5 месячных крыс-самцов, перенесших клиническую смерть. Астана медициналык журналы - 2008. - №1 (46). - С.167-169.
5. Айтбаева Ж.Б. Динамика состава и плотности гетерогенных нейронных популяций у 1,5 месячных крыс-самок, перенесших клиническую смерть и фетально-клеточную терапию // Вопросы морфологии и клиники. - В.23. - Алматы, 2008. - С. 15-18.
6. Тажибаева Д.С., Хамзина Н.К., Байбакова М.К., Кабдуалиева Н.Б., Ударцева Т.П., Айтбаева Ж.Б., Ерментгаева Л.Н., Бегларова Г.Е., Алдиярова Г.А., Тохаева М.Б. Экспериментальное обоснование применения фетально-клеточной терапии. Астана медициналык журналы - 2009. - №1 (53). - С.10-13.
7. Жусупова А.С., Доскалиев Ж.А., Ахметов К.К., Сыздыкова Б.Р., Якушева Д.С. Влияние трансплантации фетальных нейрочитов на качество жизни больных с органической патологией нервной системы. Астана медициналык журналы - 2005. - №4. - С.64-66.
8. Исламов Р.Р., Ризванов А.А., Гусев Д.С., Киясов А.П. Генная и клеточная терапия нейродегенеративных заболеваний // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия - 2007. - Том II, №3, - С.29-37
9. Г.В.Селедцова, В.И. Селедцов, С.С. Рабинович, О.В. Перлюк, М.Ю. Кафанова. Трансплантация фетальных клеток в лечении неврологических расстройств // Клеточная трансплантология и

- тканевая инженерия - 2008. - Том III, №1. - С.49-56.
10. Заржецкий Ю.В., Волков А.В., Хитров Н.К., Мороз В.В. Механизмы влияния постреанимационных изменений в мозге на динамику угашения ориентировочно-исследовательской реакции у крыс. Бюл. экспр. биол. и мед., 2004, Том 138 - №12 -С. 608-611.
  11. Тажибаева Д.С. Показатели летальности реанимированных животных на фоне трансплантации изолированных культур клеток. Астана медициналык журналы - 2003. - №4. - С.97-101.
  12. Засорин Б.В., Коньсова А.Ж., Кенжебаев В.Е., Искаков А.Ж., Насиров И.Н., Еркебаев М.К. Трансплантация культивированных фетальных нейроцитов при черепно-мозговой травме в эксперименте. Астана медициналык журналы - 2004. - №2 - С. 125-127.
  13. G. Paxinos, C.Watson.The Rat Brain in Stereotaxic Coordinate.Academic press 1982.
  14. Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. - 1977. - Vol. 266. - P. 730-732.
  15. Математическая статистика для психологов. Учебник / О.Ю. Ермолаев - 2-е изд. испр. - М. Московский психолого-социальный институт. Изд. Флинта. 2003 - 336 с.

**Рецензент: д.мед.н. Бокчубаев Э.Т.**