

УДК 615.28 : 546.171.1

ИЗМЕНЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МИЕЛОАБЛЯЦИОННОГО РЕЖИМА ПРИМЕНЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА

Ю.Ю. Ивницкий¹, Т.В. Шефер²,
А.А. Тяптин², В.Л. Рейнюк¹

¹ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России, 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

При моделировании на крысах миелоабляционной цитостатической химиотерапии с применением циклофосфана наблюдалась фульминантная гипераммониемия, сопровождавшаяся увеличением содержания аммиака и глутамина, уменьшением содержания пировиноградной и молочной кислот в ткани головного мозга. Установлена положительная корреляция между показателями азотемии, с одной стороны, и содержанием в ткани мозга аммиака и глутамин, с другой. На фоне выполнения нагрузочной пробы с ацетатом аммония изменения химического состава крови и ткани головного мозга были более выраженными. Полученные данные свидетельствуют об интенсификации поступления в головной мозг из крови аммиака желудочно-кишечного происхождения, что ведёт к истощению тканевого пула пирувата при введении циклофосфана в дозах, применяемых с целью миелоабляции. Такие изменения создают условия для нарушения энергетического обеспечения неврологических функций при проведении миелоабляционной цитостатической химиотерапии с использованием циклофосфана.

Ключевые слова: циклофосфан, миелоабляционный режим, азотемия, головной мозг, аммиак, глутамин, пируват, лактат.

Введение. Циклофосфан (Ц) – оксазафосфоринное производное бис(β-хлорэтил)амин – применяется для лечения лимфом, лейкозов и некоторых солидных опухолей. Как правило, его суточная доза не превышает 50 мг/кг, отражая компромисс между эффективностью и переносимостью. Назначение циклофосфана и других цитостатиков в более высоких дозах, способных вызвать летальную панцитопению, именуют миелоабляционной цитостатической терапией [1] и сопровождают трансплантацией аллогенных стволовых кроветворных клеток. Дозы Ц при миелоабляционной терапии на порядок превышают используемые при консервативных терапевтических режимах [2]. Минимальная миелоабляционная доза Ц составляет 120 мг/кг [3]. У крыс воздействие эквивалент-

ных доз Ц (≥600 мг/кг) проявлялось острыми неврологическими расстройствами: угнетением, тремором, утратой рефлексов и судорогами [4]. У людей сходный синдром (тремор, судороги, утрата сознания), наблюдался при в/в введении метил-бис(β-хлорэтил)амин в дозе 2,5 мг/кг [5].

Ввиду способности Ц в миелоабляционных дозах нарушать функции печени [6], почек [7], вызывать некроз клеток в криптах кишечного эпителия и геморрагический цистит [8], в формировании описанного неврологического синдрома могут вовлекаться не только метаболиты Ц, но и эндогенные токсичные вещества, содержащиеся в желудочно-кишечном химусе или моче. Некоторые из них, например аммиак, способны нарушать метаболизм головного мозга [9–12] и вызывать его отёк [11–13]. Прони-

Ивницкий Юрий Юрьевич (Ivnitsky Jury Jurievich), доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России, peugierig@mail.ru

Шефер Тимур Васильевич (Schäfer Timur Vasilievich), доктор медицинских наук, начальник отдела ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России; ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, schafer@yandex.ru

Тяптин Александр Андреевич (Tyapтин Alexander Andreevich), кандидат медицинских наук, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, tyapтин@mail.ru;

Рейнюк Владимир Леонидович (Rejnyuk Vladimir Leonidovich), доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт токсикологии» ФМБА России, vladton@mail.ru

цаемость гематоэнцефалического барьера для самого Ц незначительна [14, 15], в то время как аммиак легко проникает в ткань мозга из крови по градиенту концентрации его незаряженной молекулярной формы [16]. Это ставит вопрос о роли аммиака в формировании острых нейротоксических эффектов Ц.

Ранее, при введении Ц крысам в дозах ≥ 600 мг/кг, мы наблюдали фульминантную гипераммониемию [4], потенцируемую введением в желудок соли аммония [17], однако роль этого феномена в механизмах острой нейротоксичности Ц остаётся неизвестной. Её выяснение путём исследования химического состава крови и головного мозга при экспериментальном моделировании применения Ц в миелоабляционной дозе явилось *целью настоящего исследования*.

Материалы и методы исследования. Использовали самцов беспородных крыс-альбиносов массой 200–240 г, приобретённых в «Питомнике лабораторных животных „Рапполово“». Крыс случайным образом распределяли в группы по шесть голов и не кормили перед экспериментом в течение суток при неограниченном доступе к воде.

Гипераммониемию моделировали с помощью ацетата аммония (АА, х. ч., ЗАО «Вектон», Россия), который вводили однократно в желудок в виде водного раствора в дозе 12 ммоль/кг (0,35 ЛД₅₀), в объёме 10 мл/кг. Это количество приблизительно на порядок превышает суммарное содержание аммиака и ионов аммония в желудочно-кишечном химусе крыс [18]. Официальный препарат Ц (АО «Биохимик») растворяли в воде *ex tempore* и вводили однократно внутривентриально (в/б) в дозе 600 мг/кг (2,1 ЛД₅₀) в объёме 10 мл/кг, тотчас после АА.

Эта доза, с учётом соотношения массы и площади поверхности тела, эквивалентна минимальной миелоабляционной дозе для человека массой 60 кг: 120 мг/кг [19]. Контрольные животные вместо Ц получали изотонический раствор NaCl, а вместо АА – эквивалентное количество ацетата натрия.

Через 3 ч после введения АА и Ц крыс декапитировали; для получения плазмы кровь немедленно гепаринизировали, центрифугировали при 7000 g в течение 5 мин. Для определения метаболитов ткани головного мозга голову крысы немедленно после декапитации погружали в сосуд с жидким азотом. Через 1 ч головной мозг извлекали и растирали в фарфоровой ступке с холодной 20 %-ной трихлоруксусной кислотой (2 мл раствора на 1 г мозговой ткани), центрифугировали при 7000 g в течение 20 мин. Супернатант фильтровали в воронке Шотта под вакуумом.

Аммиак в плазме крови и фильтрате тканей головного мозга определяли фотометрически с реактивом Несслера после перегонки по Конвею, глутамин – по аммиаку после кислотного гидролиза [20]. Лактат определяли фотометрически энзиматическим методом с использованием наборов реактивов ООО «Ольвекс Диагностикум», пируват – фотометрически 2,2динитрофенолгидразиновым методом.

Для оценки влияния вводимых веществ на регистрируемые показатели использовали двухфакторный дисперсионный анализ. Межгрупповое сравнение средних величин выполняли с помощью критерия Тьюки, корреляционный анализ – методом Спирмена [21]. Уровень значимости α приняли равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Через 3 ч по-

Таблица 1

Содержание в плазме крови крыс аммиака, молочной и пировиноградной кислот ($M \pm m$, $n = 6$) через 3 ч после введения ацетата аммония и (или) циклофосфана

Введённые вещества		Концентрация, мМ		
		аммиака	лактата	пирувата
Ацетат натрия#	NaCl (контроль)	0,322 ± 0,046	3,03 ± 0,11	0,358 ± 0,026
Ацетат натрия#	Циклофосфан##	0,483 ± 0,089*	2,33 ± 0,30*	0,240 ± 0,031*
Ацетат аммония#	NaCl	0,609 ± 0,130*	2,96 ± 0,07	0,244 ± 0,013*
Ацетат аммония#	Циклофосфан##	0,770 ± 0,107*†	1,99 ± 0,14*†	0,147 ± 0,004*†

Примечание: # – в/ж, 12 ммоль/кг; ## – в/б, 600 мг/кг; различие значимо, $p < 0,05$:

* – с контролем; † – с животными, получившими только ацетат аммония

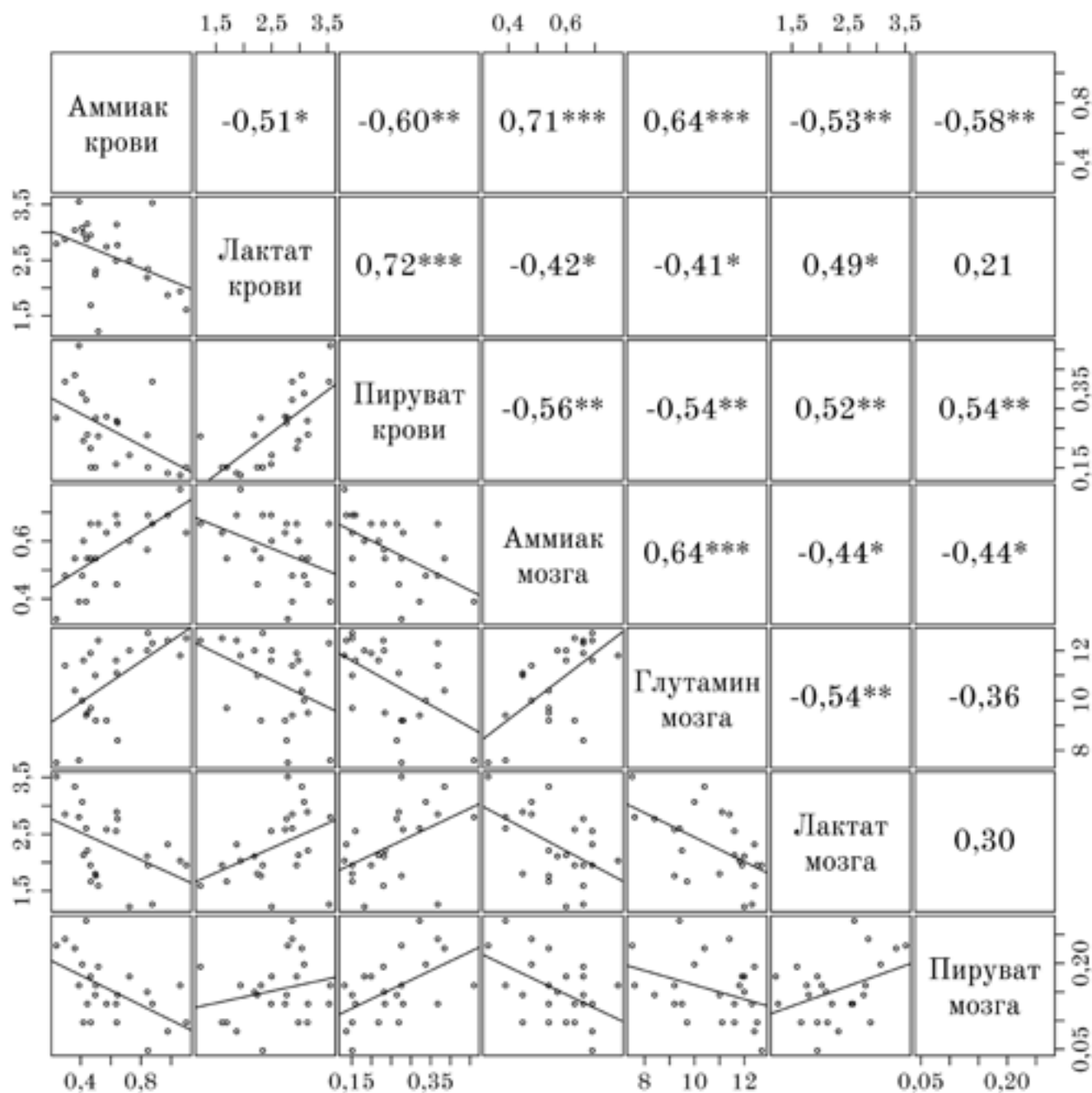


Рис. 1. Корреляционная матрица величин метаболических показателей крови и головного мозга крыс через 3 ч после введения ацетата аммония (в/ж, 12 ммоль/кг) и (или) циклофосфана (в/б, 600 мг/кг). Показатели перечислены по диагонали; снизу слева от неё – коррелогаммы величин, выраженных в миллимолях на литр крови или на килограмм ткани головного мозга, по каждой оси абсцисс – показатель из соответствующего столбца, по каждой оси ординат – показатель из соответствующей строки; справа сверху – значения коэффициентов корреляции Спирмена r . Величина r значительно отличается от нуля: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

сле введения Ц или АА содержание аммиака в плазме крови возрастало в 1,9 и 1,5 раза, соответственно, а после их сочетанного введения – 2,4-кратно. Содержание пирувата в крови после изолированного введения АА или Ц было

в 1,5 раза меньшим, а после их сочетанного введения – в 2,4 раза меньшим, чем у интактных крыс. Содержание лактата в крови снижалось в меньшей мере; отношение возрастало в 1,6 раза (табл. 1).

Содержание в головном мозгу крыс аммиака, глутамина, молочной и пировиноградной кислот (M ± m, n = 6) через 3 ч после введения ацетата аммония и (или) циклофосфана

Введённые вещества аммиака		Концентрация, мМ			
		глутамина	лактата	пирувата	
Ацетат натрия [#]	NaCl (контроль)	0,44 ± 0,03	9,4 ± 0,6	3,03 ± 0,14	0,222 ± 0,016
Ацетат натрия [#]	Циклофосфан ^{##}	0,58 ± 0,03*	11,6 ± 0,4*	1,62 ± 0,14*	0,159 ± 0,010*
Ацетат аммония [#]	NaCl	0,59 ± 0,03*	10,3 ± 0,6	2,42 ± 0,15*	0,129 ± 0,012*
Ацетат аммония [#]	Циклофосфан ^{##}	0,67 ± 0,03*	11,8 ± 0,4*	2,08 ± 0,13*	0,102 ± 0,016*†

Примечание: # – в/ж, 12 ммоль/кг; ## – в/б, 600 мг/кг; различие значимо, $p < 0,05$:
* – с контролем; † – с животными, получившими только ацетат аммония

Похожие изменения выявлены и в ткани головного мозга: под влиянием Ц, АА или обоих токсикантов содержание лактата снижалось в 1,9; 1,3 и 1,5 раза, пирувата – в 1,4; 1,7 и 2,2 раза, соответственно (табл. 2). Отношение в ткани головного мозга крыс, получивших Ц и АА, возросло в 1,7 раза по сравнению с таковым у интактных животных. В мозгу крыс, получивших только АА, был повышен уровень аммиака, но не глутамина. При изолированном применении Ц и на фоне нагрузки солью аммония возрастало содержания как аммиака (в 1,3 и 1,5 раза), так и глутамина (в 1,2 и 1,3 раза, соответственно, табл. 2).

Азотемия положительно коррелировала с содержанием аммиака или глутамина в ткани головного мозга. Содержание аммиака или глутамина в крови или ткани мозга отрицательно коррелировало с содержанием в них пирувата или лактата (рис. 1).

Таким образом, моделирование миелоабляционного режима применения Ц сопровождалось гипераммониемией, накоплением аммиака и глутамина в ткани головного мозга, уменьшением содержания в плазме крови и ткани головного мозга лактата и пирувата; на фоне нагрузки АА эти изменения усугублялись (табл. 1 и 2).

Возможны 4 механизма снижения уровня пировиноградной кислоты в ткани мозга [22]: интенсификация (1) пируватдегидрогеназной реакции с образованием ацетил-КоА, (2) обращённой лактатдегидрогеназной реакции, (3) карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата и (4) аминирования пирувата

с образованием аланина. Первый вариант затруднён при избытке ацетил-КоА, характерном для отравления солями аммония [23]; второй можно было бы принять, исходя из повышения отношения, но ему противоречит убыль лактата. Более вероятны третий и четвёртый варианты: убыль пирувата вследствие интенсификации поступления аммиака в нервную ткань. Карбоксилирование пирувата стимулируется низкой концентрацией оксалоацетата, связанной с уровнем кетоглутарата; избыток аммиака в крови и тканях (табл. 1 и 2) ведёт к аминированию именно этих кетокислот, истощая пул интермедиатов цикла Кребса [22]. Нельзя исключить и непосредственное аминирование пирувата при участии аланинаминотрансферазы с образованием аланина [24]. В пользу субстратной активации аммиаком аминирования кетокислот [25], в частности, пировиноградной, говорит повышение отношения, указывающее на восстановленность пула пиридиновых нуклеотидов, что способствует восстановительному аминированию. Это подтверждается и тем, что в крови и головном мозгу крыс через 3 ч после введения АА и (или) Ц уровни аммиака и глутамина, с одной стороны, и молочной и пировиноградной кислот, с другой, изменялись дискордантно (рис. 1). Так как от уровня аммонийного иона могут зависеть уровни глутамина, пирувата и, через пируват, лактата, но не наоборот, вероятной непосредственной причиной таких изменений была гипераммониемия.

Снижение доступности пирувата усугубляет энергетический дефицит нервной ткани, вы-

зывается прямым действием алкилирующих соединений на окислительный ресинтез АТФ [26]. Возможны и другие механизмы нарушения энергетического обмена аммиаком – истощение НАД⁺ при гиперактивации поли-АДФ-рибозилирования [10], транзиторное повышение проницаемости митохондриальных мембран [11], образование комплексов соединений с атомами железа и меди в активных центрах оксидоредуктаз [27], ингибирование α-кетоглутаратдегидрогеназы и малат-аспартатного шунта [28], интенсификация гидролиза АТФ, окисления НАДФН₂ [13], истощение пула интермедиатов цикла Кребса [29], связывание Mg²⁺ в трипель-фосфат [12], повреждение клеток вследствие гиперактивации NMDA-рецепторов [10]. Через эти механизмы гипераммониемия может быть вовлечена в формирование не только нейротоксических, но и других резорбтивных эффектов Ц. На это указывает более ранняя гибель крыс, получавших Ц в дозе 200 мг/кг, не вызывавшей неврологических расстройств, на фоне в/ж введения АА [30].

Заключение. Введение крысам Ц в дозе 600 мг/кг, позволявшей моделировать миелоабляционный режим его применения, сопровождалось накоплением аммиака и глутамина в крови и в ткани головного мозга при одновременном снижении содержания пировиноградной и молочной кислот, увеличении отношения содержания лактата и пирувата. Накопление аммиака в ткани мозга было меньшим, чем в плазме крови, и усугублялось на фоне введения в желудок АА. Такие изменения указывают на интенсификацию поступления в головной мозг из крови аммиака желудочно-кишечного происхождения как на причину истощения тканевого пула пирувата, в ткани головного мозга. Полученные данные показывают, что профилактика фульминантной гипераммониемии является одной из проблем при использовании Ц с целью подготовки пациентов к пересадке стволовых кроветворных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Kharfan-Dabaja M.A., Reljic T., El-Asmar J., Nishihori T., Ayala E., Hamadani M. et al. Reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for mantle cell lymphoma: a systematic review. *Future oncol.* 2016; 22 (12): 2631-42.
- Haioun C., Lepage E., Gisselbrecht C., Salles G., Coiffier B., Brice P. et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 3025-30.
- Atilla E., Atilla P.A., Demirel T. A review of myeloablative vs reduced intensity/non-myeloablative regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Balkan Med J.* 2017, 34 (1): 1-9.
- Schäfer T.V., Ivnitsky J.J., Rejniuk V.L. Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2011; 34: 25-31.
- Clifford P., Bhardwaj B.V., Whittaker L.R. Intensive nitrogen mustard therapy with abdominal aortic occlusion in nasopharyngeal carcinoma. *Brit. J. Cancer.* 1965; 19: 51-71.
- Fraiser L.H., Kanekai S., Kehrer J.P. Cyclophosphamide toxicity. Characterizing and avoiding the problem. *Drugs.* 1991; 42: 781-95.
- Sayed-Ahmed M. Progression of cyclophosphamide-induced acute renal metabolic damage in carnitine-depleted rat model. *Clin. Exp. Nephrol.* 2010; 14 (5): 418-26.
- Ekena J., Wood E., Manchester A., Chun R., Trepanier L.A. Glutathione-S-transferase-theta genotypes and the risk of cyclophosphamide toxicity in dogs. *Vet Comp Oncol.* 2018; 16(4): 529-34.
- Dasarathy S., Mookerjee R.P., Rackayova V., Rangroo Thrane V., Vairappan B., Ott P. et al. Ammonia toxicity: from head to toe? *Metab Brain Dis.* 2017 Apr; 32(2): 529-38.
- Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. Клеточные механизмы токсичности аммиака. М.: Изд-во ЛКИ; 2008.
- Norenberg M.D., Rama Rao K.V., Jayakumar A.R. Ammonia neurotoxicity and the mitochondrial permeability transition. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2004; 36: 303-7.
- Козлов Н.Б. Аммиак, его обмен и роль в патологии. М.: Медицина; 1971.
- Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии. СПб.: ЭлбисПб; 2000.
- Unger C., Eibl H., von Heyden H.W., Krisch B., Nagel G.A. Blut-Hirn-Schranke und das Eindringen von Zytostatika. *Klin. Wochenschr.* 1985; 63 (12): 565-71.
- Orbach D., Brisse H., Doz F. Central neurological manifestations during chemotherapy in children. *Arch. Pediatr.* 2003; 10 (6): 533-9.
- Cooper A. J. L., Plum F. Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol. Rev.* 1987; 67: 440-519.
- Ivnitsky J.J., Schäfer T.V., Rejniuk V.L. Promotion of the toxic action of cyclophosphamide by digestive tract luminal ammonia in rats. *ISRN Toxicology.* 2011; (Article ID 450875). Available at: <http://www.hindawi.com/isrn/toxicology/2011/450875>.
- Kim K., Lee W., Benevenga N.J. Feeding diets containing high levels of milk products or cellulose decrease urease activity and ammonia production in rat intestine. *J. Nutr.* 1998; 128: 1186-91.
- Хабриев П.У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд. М.: Медицина, 2005.
- Whitehead T.P., Whittaker S.R.F. A method for the determination of glutamine in cerebrospinal fluid and the results in hepatic coma. *J. Clin. Pathol.* 1955; 8: 81-4.
- R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2017. Available at: <http://www.r-project.org/>.
- Дэгли С., Никольсон Д. Метаболические пути. М.: Мир; 1973.
- Edson N.L. Ketogenesis – antiketogenesis. 1. The influence of ammonium chloride on ketone-body formation in liver. *Biochem. J.* 1935; 29 (9): 2082-94.
- Dadsetan S., Kukolj E., Bak L.K., Sørensen M., Ott P., Vilstrup H. et al. Brain alanine formation as an ammonia-scavenging pathway during hyperammonemia: effects of glutamine synthetase inhibition in rats and astrocyte-neuron co-cultures. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33 (8): 1235-41.
- Dadsetan S. Inhibition of glutamine synthesis induces glutamate dehydrogenase-dependent ammonia fixation into alanine in co-cultures of astrocytes and neurons. *Neurochem. Int.* 2011; 59 (4): 482-8.
- Хурцилава О.Г., ред., Плужников Н.Н., ред., Накатис Я.А., ред. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство. СПб.: Изд-во СПбГУ им. И. И. Мечникова; 2012.
- Зеленин К.Н., Алексеев В.В. Химия общая и биорганическая. СПб.: Элбис-СПб; 2003.
- Lai J.S., Cooper A.J. Neurotoxicity of ammonia and fatty acids: differential inhibition of mitochondrial dehydrogenases by ammonia and fatty acyl coenzyme A derivatives. *Neurochem. Res.* 1991; 16 (7): 795-803.
- Ott P., Clemmesen O., Larssen F.S. Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: From hyperammonemia to energy failure and proteolysis. *Neurochem. Int.* 2005; 47 (1-2): 13-8.
- Шефер Т.В., Рейнюк В.Л., Малаховский В.Н., Ивницкий Ю.Ю. Роль люминального пула аммиака пищеварительного тракта в реализации токсического действия циклофосфана на крыс. *medline.ru.* 2010; 11. Available at: <http://www.medline.ru/public/art/tom11/art44.html>.
- Kharfan-Dabaja M.A., Reljic T., El-Asmar J., Nishihori T., Ayala E., Hamadani M. et al. Reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for mantle cell lymphoma: a systematic review. *Future oncol.* 2016; 22 (12): 2631-42.
- Haioun C., Lepage E., Gisselbrecht C., Salles G., Coiffier B., Brice P. et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 3025-30.
- Atilla E., Atilla P.A., Demirel T. A review of myeloablative vs reduced intensity/non-myeloablative regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Balkan Med J.* 2017, 34 (1): 1-9.
- Schäfer T.V., Ivnitsky J.J., Rejniuk V.L. Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2011; 34: 25-31.
- Clifford P., Bhardwaj B.V., Whittaker L.R. Intensive nitrogen mustard therapy with abdominal aortic occlusion in nasopharyngeal carcinoma. *Brit. J. Cancer.* 1965; 19: 51-71.
- Fraiser L.H., Kanekai S., Kehrer J.P. Cyclophosphamide toxicity. Characterizing

REFERENCES:

- Kharfan-Dabaja M.A., Reljic T., El-Asmar J., Nishihori T., Ayala E., Hamadani M. et al. Reduced-intensity or myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for mantle cell lymphoma: a systematic review. *Future oncol.* 2016; 22 (12): 2631-42.
- Haioun C., Lepage E., Gisselbrecht C., Salles G., Coiffier B., Brice P. et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 3025-30.
- Atilla E., Atilla P.A., Demirel T. A review of myeloablative vs reduced intensity/non-myeloablative regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Balkan Med J.* 2017, 34 (1): 1-9.
- Schäfer T.V., Ivnitsky J.J., Rejniuk V.L. Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2011; 34: 25-31.
- Clifford P., Bhardwaj B.V., Whittaker L.R. Intensive nitrogen mustard therapy with abdominal aortic occlusion in nasopharyngeal carcinoma. *Brit. J. Cancer.* 1965; 19: 51-71.
- Fraiser L.H., Kanekai S., Kehrer J.P. Cyclophosphamide toxicity. Characterizing

- and avoiding the problem. *Drugs*. 1991; 42: 781-95.
7. *Sayed-Ahmed M.* Progression of cyclophosphamide-induced acute renal metabolic damage in carnitine-depleted rat model. *Clin. Exp. Nephrology*. 2010; 14 (5): 418-26.
8. *Ekena J., Wood E., Manchester A., Chun R., Trepanier L.A.* Glutathione-S-transferase-theta genotypes and the risk of cyclophosphamide toxicity in dogs. *Vet Comp Oncol*. 2018; 16(4): 529-34.
9. *Dasarathy S., Mookerjee R.P., Rackayova V., Rangroo Thrane V., Vairappan B., Ott P.* et al. Ammonia toxicity: from head to toe? *Metab Brain Dis*. 2017 Apr; 32(2): 529-38.
10. *Kosenko E.A., Kaminskiy Yu.G.* Cellular mechanisms of toxicity of ammonia. Moscow: IZD-VO LKI; 2008 (in Russian).
11. *Norenberg M.D., Rama Rao K.V., Jayakumar A.R.* Ammonia neurotoxicity and the mitochondrial permeability transition. *J. Bioenerg. Biomembr*. 2004; 36: 303-7.
12. *Kozlov N.B.* Ammonia, its metabolism and role in disease. Moscow: Meditsina; 1971 (in Russian).
13. *Zaychik A.Sh., Churilov L.P.* Fundamentals of pathochemistry. Saint-Petersburg: Elbi-SPb; 2000 (in Russian).
14. *Unger C., Eibl H., von Heyden H.W., Krisch B., Nagel G.A.* Blut-Hirn-Schranke und das Eindringen von Zytostatika. *Klin. Wochenschr*. 1985; 63 (12): 565-71.
15. *Orbach D., Brisse H., Doz F.* Central neurological manifestations during chemotherapy in children. *Arch. Pediatr*. 2003; 10 (6): 533-9.
16. *Cooper A.J.L., Plum F.* Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol. Rev*. 1987; 67: 440-519.
17. *Ivnitsky J.J., Schäfer T.V., Rejniuk V.L.* Promotion of the toxic action of cyclophosphamide by digestive tract luminal ammonia in rats. *ISRN Toxicology*. 2011; (Article ID 450875). Available at: <http://www.hindawi.com/ism/toxicology/2011/450875>.
18. *Kim K., Lee W., Benevenga N.J.* Feeding diets containing high levels of milk products or cellulose decrease urease activity and ammonia production in rat intestine. *J. Nutr*. 1998; 128: 1186-91.
19. *Khavriev R.U.*, ed. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. 2nd ed. Moscow: Meditsina; 2005 (in Russian).
20. *Whitehead T.P., Whittaker S.R.F.* A method for the determination of glutamine in cerebrospinal fluid and the results in hepatic coma. *J. Clin. Pathol*. 1955; 8: 81-4.
21. *R: A language and environment for statistical computing.* Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2017. Available at: <http://www.r-project.org/>.
22. *Dagley S., Nicholson D.E.* An introduction to metabolic pathways. Oxford, Edinburg: Blackwell Scientific Publications; 1970.
23. *Edson N.L.* Ketogenesis – antiketogenesis. 1. The influence of ammonium chloride on ketone-body formation in liver. *Biochem. J*. 1935; 29 (9): 2082-94.
24. *Dadsetan S., Kukulj E., Bak L.K., Sørensen M., Ott P., Vilstrup H.* et al. Brain alanine formation as an ammonia-scavenging pathway during hyperammonemia: effects of glutamine synthetase inhibition in rats and astrocyte-neuron co-cultures. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2013; 33 (8): 1235-41.
25. *Dadsetan S.* Inhibition of glutamine synthesis induces glutamate dehydrogenase-dependent ammonia fixation into alanine in co-cultures of astrocytes and neurons. *Neurochem. Int*. 2011; 59 (4): 482-8.
26. *Khurtsilava O.G.*, ed., *Pluzhnikov N.N.*, ed., *Nakatis Ya.A.*, ed. Oxidative stress and inflammation: a pathogenetic partnership. Saint-Petersburg: IZD-VO SPBGU im. I. I. Mechnikova; 2012 (in Russian).
27. *Zelenin K.N., Alekseev V.V.* A general and bioorganic chemistry. Saint-Petersburg: Elbi-SPb; 2003 (in Russian).
28. *Lai J.S., Cooper A.J.* Neurotoxicity of ammonia and fatty acids: differential inhibition of mitochondrial dehydrogenases by ammonia and fatty acyl coenzyme A derivatives. *Neurochem. Res*. 1991; 16 (7): 795-803.
29. *Ott P., Clemmesen O., Larssen F.S.* Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: From hyperammonemia to energy failure and proteolysis. *Neurochem. Int*. 2005; 47 (1-2): 13-8.
30. *Schäfer T.V., Rejniuk V.L., Malakhovskiy V.N., Ivnitsky J.J.* The role of the digestive tract luminal ammonia pool in cyclophosphamide toxicity in rat. *medline.ru*. 2010; 11. Available at: <http://www.medline.ru/public/art/tom11/art44.html> (Accessed 5 March 2019, in Russian).

Yu.Yu. Ivnitsky¹, T.V. Schäfer², A.A. Tyaptin², V.L. Rejniuk¹

CHANGES IN THE CHEMICAL COMPOSITION OF BLOOD AND BRAIN OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF MODELING OF THE MYELOABLATION REGIMEN OF CYCLOPHOSPHAMIDE ADMINISTRATION

¹Institute of Toxicology, Federal Medical Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

²State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine, Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Saint Petersburg, Russian Federation

When modeling myeloablation cytostatic chemotherapy with cyclophosphamide in rats fulminant hyperammonemia was observed accompanied by an increase in the content of ammonia and glutamine, a decrease in the content of pyruvic and lactic acids in brain tissue. A positive correlation between the indicators of azotemia and the content of ammonia and glutamine in brain tissue was established. In loading test with ammonium acetate changes in the chemical composition of blood and brain tissue were more pronounced. The data obtained indicate the intensification of the intake of gastrointestinal ammonia into the brain from the blood, which leads to the depletion of the tissue pool of pyruvate with the introduction of cyclophosphane in doses used for myeloablation. Such changes create the conditions for disruption of energy supply of neurological functions during myeloablative cytotoxic chemotherapy using cyclophosphamide.

Keywords: cyclophosphamide, myeloablation regime, azotemia, brain, ammonia, glutamine, pyruvate, lactate.

Материал поступил в редакцию 23.04.2019 г.

