

УДК 616.71-001.5-092.9:612.017

**СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЛИТРАВМЕ:  
ВЛИЯНИЕ НАЗНАЧЕНИЯ АДРЕНАЛИНА И ДЕКСАМЕТАЗОНА**

<sup>1,2</sup>Бочаров С.Н., <sup>2</sup>Кулинский В.И., <sup>1</sup>Лебедь М.Л., <sup>1</sup>Кирпиченко М.Г., <sup>2</sup>Гуманенко В.В.,  
<sup>2</sup>Бахтаирова В.И., <sup>2</sup>Булавинцева О.А., <sup>2</sup>Егорова И.Э., <sup>2</sup>Колесниченко Л.С.,  
<sup>2</sup>Леонова З.А., <sup>2</sup>Суслова А.И., <sup>2</sup>Ясько М.В., <sup>1</sup>Лепехова С.А.,  
<sup>1</sup>Родионова Л.В., <sup>1</sup>Кинаш И.Н.

<sup>1</sup>ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии»

СО РАМН, Иркутск, e-mail: bocharov@irk.ru;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Иркутск

В эксперименте, воспроизводимшем модель множественной скелетной травмы в условиях общей анестезии у кроликов породы шиншилла, в первой группе животных в послеоперационном периоде на фоне стандартного лечения было зарегистрировано снижение интенсивности обменных процессов. Поэтому во второй группе кроликов в аналогичных условиях после нанесения множественной скелетной травмы помимо стандартного лечения с целью коррекции посттравматического гипобиоза дополнительно назначали адреналин и дексаметазон. Исследование влияния адреналина и дексаметазона на систему глутатиона внутренних органов во второй группе лабораторных животных показало общую тенденцию к повышению содержания восстановленного глутатиона и снижению активности глутатионпероксидазы в сердце, лёгких, печени и почках. Выявленное у кроликов второй группы снижение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в лёгких ослабляло антиоксидантную защиту и способствовало вторичному повреждению.

**Ключевые слова:** система глутатиона, внутренние органы, множественная скелетная травма, адреналин, дексаметазон

**GLUTATHIONE SYSTEM OF INTERNAL ORGANS IN THE PRESENCE  
OF MULTIPLE SKELETAL TRAUMA IN EXPERIMENT – ROLE  
OF EPINEPHRINE AND DEXAMETHASONE**

<sup>1,2</sup>Bocharov S.N., <sup>2</sup>Kulinskiy V.I., <sup>1</sup>Lebed M.L., <sup>1</sup>Kirpichenko M.G., <sup>2</sup>Gumanenko V.V.,  
<sup>2</sup>Bakhtairova V.I., <sup>2</sup>Bulavintseva O.A., <sup>2</sup>Egorova I.E., <sup>2</sup>Kolesnichenko L.S., <sup>2</sup>Leonova Z.A.,  
<sup>2</sup>Suslova A.I., <sup>2</sup>Yasko M.V., <sup>1</sup>Lepekhova S.A., <sup>1</sup>Rodionova L.V., <sup>1</sup>Kinash I.N.

<sup>1</sup>Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk, e-mail: bocharov@irk.ru;

<sup>2</sup>Irkutsk State Medical University, Irkutsk

The experiment involving Chinchilla rabbits simulated multiple skeletal trauma in conditions of general anaesthesia. In postoperative period on the background of standard treatment, the first group of animals showed reduction of metabolic activity. For this reason, the second group of rabbits having the same conditions of multiple skeletal trauma simulation together with the standard treatment additionally received Epinephrine and Dexamethasone for correction of posttraumatic hypobiosis. Having studied the influence of Epinephrine and Dexamethasone on the system of glutathione of internal organs in animals of the second group, we marked the general tendency for increasing of reduced glutathione and decreasing of activity of glutathione peroxidase in heart, lungs, liver and kidneys. Decreased activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase, that we revealed in lungs, weakened antioxidant protection and worked towards secondary injury.

**Keywords:** glutathione system, internal organs, multiple skeletal trauma, Epinephrine, Dexamethasone

На начальном этапе настоящего исследования было установлено, что адаптация кроликов породы шиншилла в условиях множественной скелетной травмы реализовывалась по толерантному (пассивному) типу, характеризующемуся снижением интенсивности обменных процессов [2]. Тогда же у лабораторных животных после травмы были выявлены признаки системной воспалительной реакции, сопутствующего ей оксидативного стресса и дисбаланса антиоксидантной системы во внутренних органах [3].

С целью коррекции посттравматического гипобиоза во второй группе кроликов в условиях множественной скелетной травмы мы назначали препараты, препятствующие развитию толерантной (пассивной) адаптации – адреналин и дексаметазон. Оба названных препарата обладают противовоспалительным действием [4, 6]. Однако в условиях эксперимента введение дексаметазона и адреналина кроликам после множественной скелетной травмы вызывало незначительное увеличение количе-

ства лейкоцитов в ближайший период после травмы, в то время как качественный состав лейкоцитов не претерпел значимых изменений в течение всего послеоперационного наблюдения. Показатели концентрации в крови продуктов перекисного окисления липидов также не имели статистически достоверных межгрупповых отличий.

Используемые для характеристики системного воспаления и перекисного окисления липидов показатели крови являлись интегральными и демонстрировали суммарные изменения в организме. Очевидно, что обобщающие данные не позволяют корректно судить о локальном балансе перекисных процессов и активности антиоксидантных систем. Воздействие оксидативного стресса на внутренние органы неодинаково из-за различий в интенсивности образования активных форм кислорода и особенностей функционирования собственных антиоксидантных систем.

Лабораторные животные, получавшие адреналин и дексаметазон, заведомо находились в менее благоприятных условиях, что связано с достоверно более интенсивным потреблением кислорода и более высоким уровнем метаболизма, требовавшими более активного функционирования эндогенных антиоксидантных систем.

Поэтому исследование состояния антиоксидантной защиты внутренних органов, а соответственно подверженности внутренних органов оксидативному стрессу, в условиях множественной скелетной травмы на фоне терапии дексаметазоном и адреналином представлялось нам актуальным.

### Материалы и методы исследования

Объектом исследования были 30 кроликов породы шиншилла в возрасте от 6 до 12 месяцев. Все манипуляции с животными производились на базе vivария научного отдела экспериментальной хирургии ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН, были одобрены этическим комитетом ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН и соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». Контрольную группу составили 10 интактных лабораторных животных, у которых после эвтаназии путем внутривенного введения раствора хлорида калия на фоне барбитуровой седации производили забор внутренних органов – сердца, лёгких, печени и почек. Исследование компонентов системы глутатиона выполняли в биохимической лаборатории на базе кафедры биохимии Иркутского государственного медицинского университета. В образцах внутренних органов определяли содержание восстановленного глутатиона [7] и активность трёх ферментов: глутатионредуктазы (ГР) [11], глутатионтрансферазы (ГТ) [10] и глутатионпероксидазы (ГПО) [9]. Полученные в контрольной группе данные

мы использовали в качестве референсных значений. 10 кроликам основной группы № 1 в условиях общей анестезии выполняли оперативное вмешательство: стабилизацию костей правого предплечья и левой голени спицевым аппаратом внешней фиксации из 2-х подсистем с последующей остеотомией костей соответствующих сегментов в средней трети. Стандартное послеоперационное лечение включало внутримышечное обезболивание анальгином в дозе 400–500 мг/кг/сутки в течение 5 дней после операции, антибиотикопрофилактику линкомицином 50–70 мг/кг/сутки и инфузионную терапию раствором глюкозы 5% в дозе 50–60 мл/кг/сутки в течение 3 дней после операции. Через 7 дней после операции кроликам основной группы № 1 производили забор внутренних органов так же, как это делалось в контрольной группе. У 10 кроликов основной группы № 2 воспроизводили модель множественной скелетной травмы аналогично тому, как это делали в группе № 1. Однако в послеоперационном периоде животным группы № 2 помимо стандартного лечения дополнительно парентерально назначали адреналин 2,5–3 мкг/кг/сутки и дексаметазон 4–6 мг/кг/сутки в течение 3 суток после травмы. Забор образцов внутренних органов проводили через 3 суток после травмы таким же образом, как в контрольной группе. Более ранние сроки забора материала в группе № 2 объясняются уменьшением продолжительности жизни лабораторных животных на фоне введения адреналина и дексаметазона.

Статистическая обработка данных проводилась методами описательной статистики и сравнения выборок (U-критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони при множественном сравнении). Уровень статистической значимости принят равным 0,05. Обработка данных проводилась с использованием программы R (версия 2.13.1.) Результаты исследования представлены в виде медианы (Me), 25-й и 75-й перцентилей ( $P_{25}$  и  $P_{75}$ ).

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования состояния системы глутатиона сердца, лёгких, печени и почек лабораторных животных (табл. 1–4) позволяют сделать вывод о состоянии антиоксидантной защиты внутренних органов, а соответственно об их подверженности оксидативному стрессу, в условиях множественной скелетной травмы на фоне терапии дексаметазоном и адреналином. Данные контрольной группы приведены в качестве референсного диапазона.

*Сердце.* У кроликов группы № 2 показатели активности всех трёх исследованных нами ферментов системы глутатиона – глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и глутатионпероксидазы – не имели значимых отличий от аналогичных показателей группы № 1. В то же время содержание восстановленного глутатиона у лабораторных животных группы № 2 статистически достоверно было выше не только данных группы № 1 (примерно на 40%), но и нормальных показателей контрольной группы.

**Таблица 1**

Активность глутатионредуктазы во внутренних органах лабораторных животных контрольной группы и основных групп № 1 и 2, Ме (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>)

Группы	Активность глутатионредуктазы, мкмоль/мин/г			
	печень	почки	сердце	лёгкие
Контроль	47,7 (21,8; 79,5)	82,4 (48,9; 135,8)	41,7 (30,3; 50,3)	25,2 (21,2; 43)
Группа № 1	25,4 (19,5; 33,9)	50,0 (45; 55,3)	18,6 (15,7; 23,3)	18,8 (15,9; 20,8)
Группа № 2	27,0 (17,9; 36,9)	45,8 (39,1; 63,5)	14,1 (12,8; 19,2)	14,3 (11,1; 17,2)
<i>p</i> между группами № 1 и 2	0,734	0,791	0,507	0,121

**Таблица 2**

Активность глутатионтрансферазы во внутренних органах лабораторных животных контрольной группы и основных групп № 1 и 2, Ме (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>)

Группы	Активность глутатионтрансферазы, мкмоль/мин/г			
	печень	почки	сердце	лёгкие
Контроль	2638 (2491; 3943)	1216 (924; 1674)	428 (373; 516)	562 (456; 954)
Группа № 1	<b>2105 (1459; 2539)</b>	<b>1075 (986; 1171)</b>	324 (208; 339)	344 (251; 446)
Группа № 2	<b>3724 (2884; 4076)</b>	<b>1296 (1160; 1582)</b>	264 (246; 311)	309 (264; 390)
<i>p</i> между группами № 1 и 2	<b>0,025</b>	<b>0,02</b>	0,894	0,775

**Таблица 3**

Активность глутатионпероксидазы во внутренних органах лабораторных животных контрольной группы и основных групп № 1 и 2, Ме (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>)

Группы	Активность глутатионпероксидазы, мкмоль/мин/г			
	печень	почки	сердце	лёгкие
Контроль	622 (382; 1036)	441 (339; 629)	211 (154; 233)	284 (172; 485)
Группа № 1	398 (238; 574)	319 (196; 522)	203 (136; 297)	<b>198 (135; 294)</b>
Группа № 2	269 (179; 346)	263 (157; 280)	136 (94; 201)	<b>103 (68; 119)</b>
<i>p</i> между группами № 1 и 2	0,14	0,326	0,268	<b>0,014</b>

**Таблица 4**

Содержание восстановленного глутатиона во внутренних органах лабораторных животных контрольной группы и основных групп № 1 и 2, Ме (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>)

Группы	GSH, мкмоль/г			
	печень	почки	сердце	лёгкие
Контроль	2,536 (1,999; 2,686)	1,639 (1,168; 1,987)	1,396 (1,352; 1,411)	1,131 (0,974; 2,183)
Группа № 1	2,528 (1,812; 2,885)	1,617 (1,277; 1,76)	<b>1,249 (1,087; 1,565)</b>	1,323 (0,97; 1,719)
Группа № 2	3,087 (2,205; 3,756)	1,838 (1,701; 2,113)	<b>1,749 (1,514; 1,911)</b>	1,793 (1,433; 2,131)
<i>p</i> между группами № 1 и 2	0,212	0,112	<b>0,011</b>	0,141

*Лёгкие.* Общая для группы № 2 тенденция к снижению активности глутатионпероксидазы в образцах внутренних органов была особенно выраженной и достигала критических уровней статистической значимости при исследовании образцов ткани лёгких. В сравнении с данными группы № 1 активность глутатионпероксидазы у кроликов группы № 2 падала почти наполовину. Активность глутатионпероксидазы стимулируется наличием активных форм кислоро-

да. Поэтому снижение активности глутатионпероксидазы на фоне продолжительного интенсивного оксидативного стресса может свидетельствовать об истощении функциональных резервов. Активность глутатионредуктазы, фермента, который восстанавливает окисленный глутатион и обеспечивает сохранение резервов восстановленного глутатиона без синтеза *de novo*, в лёгких у кроликов группы № 2, хотя и не отличалась от аналогичного показателя группы № 1,

но имела статистически значимые отличия с контрольной группой, демонстрируя снижение по сравнению с контролем примерно на 43% ( $p < 0,01$ ). Показатели активности глутатионтрансферазы и содержания восстановленного глутатиона в лёгких лабораторных животных группы № 2 не имели достоверных отличий с группой № 1. Таким образом, в органе, через который проходит максимальный кислородный поток, наблюдался очевидный провал в системе антиоксидантной защиты.

*Печень и почки.* Изменения системы глутатиона в печени и почках кроликов группы № 2 имели схожий характер. Тенденция к увеличению содержания восстановленного глутатиона и снижению активности глутатионпероксидазы, наблюдавшаяся при сравнении с группой № 1, не получила статистического подтверждения. Активность глутатионредуктазы в печени и почках кроликов групп № 1 и 2 регистрировалась приблизительно на одном уровне. А вот активность глутатионтрансферазы в образцах, полученных в группе № 2, была значимо выше: на 76,9% в печени и на 20,6% в почках.

Таким образом, в трёх из четырёх исследованных органах – сердце, печени и почках – изменения системы глутатиона в условиях множественной скелетной травмы на фоне введения адреналина и дексаметазона свидетельствовали об эффективном функционировании антиоксидантной системы. Например, повышение активности глутатионтрансферазы, указывающее на «необратимые» потери восстановленного глутатиона в печени и почках, при отсутствии снижения собственно восстановленного глутатиона подтверждает эффективную работу антиоксидантной системы и сохранение резервов при очевидной функциональной нагрузке.

В то же время двукратное снижение активности глутатионпероксидазы в лёгких демонстрирует ослабление антиоксидантной защиты этого органа, возможно связанное с истощением резервов. Эффективное функционирование системы глутатиона в лёгких необходимо для защиты от сильного и постоянного действия вдыхаемого кислорода, неизбежно образующего активные формы кислорода (АФК) [12, 8]. Особая значимость глутатионпероксидазы обусловлена свойством восстанавливать не только пероксид водорода, но и органические гидропероксиды свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот и, возможно, белков [5]. В патогенезе оксидативного стресса АФК играют иницирующую роль. Атака АФК полиненасыщенных це-

пей жирных кислот, входящих в состав клеточных мембран, а также липопротеинов приводит к образованию гидрофобных радикалов, которые взаимодействуют друг с другом и иницируют дальнейшее распространение перекисного окисления липидов по принципу цепной реакции [1, 13]. Именно ферментативная АОС обеспечивает мощный и эффективный метаболизм не только АФК, но и активных окисленных соединений [1, 5].

### Заключение

У кроликов породы шиншилла в условиях множественной скелетной травмы при назначении дексаметазона и адреналина общими тенденциями изменения системы глутатиона в сердце, лёгких, печени и почках были повышение содержания восстановленного глутатиона и снижение активности глутатионпероксидазы. Выявленное у лабораторных животных в условиях множественной скелетной травмы на фоне введения дексаметазона и адреналина падение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в лёгких ослабляло антиоксидантную защиту и способствовало вторичному повреждению органа.

### Список литературы

1. Биохимия: учебник для вузов / Под ред. Е.С. Северина. – М.: Гэотар-Мед, 2003. – 779 с.
2. Бочаров С.Н., Кулинский В.И., Виноградов В.Г., Лебедь М.Л., Кирпиченко М.Г., Гуманенко В.В., Лепехова С.А., Родионова Л.В. Изменения активности метаболизма и гормонального профиля после множественной скелетной травмы в эксперименте // Сибирский медицинский журнал – 2011. – № 2. – С. 90–93.
3. Бочаров С.Н., Кулинский В.И., Лебедь М.Л., Кирпиченко М.Г., Гуманенко В.В., Бахтаирова В.И., Булавинцева О.А., Егорова И.Э., Колесниченко Л.С., Леонова З.А., Сулова А.И., Ясько М.В., Лепехова С.А., Родионова Л.В., Кинаш И.Н. Состояние системы глутатиона внутренних органов в условиях множественной скелетной травмы в эксперименте // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10 (часть 1). – С. 32–36.
4. Клинические рекомендации + фармакологический справочник / Под ред. И.Н. Денисова, Ю.Л. Шевченко. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 1184 с.
5. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред, защита // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 2–7.
6. Харкевич Д. А. Фармакология: учебник для вузов – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 736 с.
7. Anderson M.E. Enzymatic and chemical methods for the determination of glutathione // Glutathione. – 1989. – P. 339–365.
8. Comhair Saa, Erzurum SC. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase // Antioxidants and Redox Signalling. – 2005. – № 7. – P. 72–79.
9. Flohe L. Glutathione peroxidase // Basic Life Sci. – 1989. – N 49. – P. 663–668.
10. Habig W.H., Pabst M.J., Yakoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.

11. Mannervik B., Carlberg J., Larson K. Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects Part. A: Coenzymes and cofactors / Eds. Dolphin D., Avramovic O., Poulson R. – N.Y.: John Wiley and Sons, 1989. – Vol. 3. – P. 475–516.

12. Rahman I., Adcock I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD // *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 219–242.

13. Vladimirov Y. A. Studies of antioxidants with chemiluminescence // In: Proceedings of the International Symposium on Natural Antioxidants. Molecular Mechanisms and Health Effects. – Packer L., Traber M.G., and Xin W. (Eds.), 1996, pp. 125–144.

### References

1. *Biochemistry: Textbook for colleges* / Ed: E.S. Severin. Moscow: GEOTAR-Med, 2003. 779 p.

2. Bocharov S.N., Kulinskiy V.I., Vinogradov V.G., Lebed M.L., Kirpichenko M.G., Gumanenko V.V., Lepekhova S.A., Rodionova L.V. Changes of metabolic activity and hormonal profile after multiple skeletal trauma in experiment // *Siberian Medical Journal (Sibirskiy Meditsinskiy Jurnal)*. 2011. no. 2. pp. 90–93.

3. Bocharov S.N., Kulinskiy V.I., Lebed M.L., Kirpichenko M.G., Gumanenko V.V., Bakhtairova V.I., Bulavintseva O.A., Yegorova I.E., Kolesnichenko L.S., Leonova Z.A., Suslova A.I., Yas'ko M.V., Lepekhova S.A., Rodionova L.V., Kinash I.N. The system of glutathione of internal organs in conditions of multiple skeletal trauma in experiment // *Fundamental researches (Fundamentalniye issledovaniya)*. 2014. no. 10 (Part 1). pp. 32–36. (in Russian)

4. *Clinical recommendations + Formulary* / Eds: Denisova I.N., Shevchenko Yu.L.. Moscow: GEOTAR-Med, 2004. 1184 p.

5. Kulinskiy V.I. Reactive oxygen species and oxidative modification of macromolecules: benefit, harm, protection // *Soros Educational Journal (Sorosovskiy obrazovatelnyy jurnal)*. 1999. no. 1. pp. 2–7.

6. Kharkevich D.A. *Pharmacology: textbook for colleges*. Moscow: GEOTAR-Media, 2006. 736 p.

7. Anderson M.E. Enzymatic and chemical methods for the determination of glutathione // *Glutathione*. 1989. pp. 339–365.

8. Comhair Saa, Erzurum SC. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxidants and Redox Signalling* 2005, 7:72–79.

9. Flohe L. Glutathione peroxidase // *Basic Life Sci.* 1989. no. 49. pp. 663–668.

10. Habig W.H., Pabst M.J., Yakoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249, no. 22. pp. 7130–7139.

11. Mannervik B., Carlberg J., Larson K. Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects Part. A: Coenzymes and cofactors / Eds. Dolphin D., Avramovic O., Poulson R. N.Y.: John Wiley and Sons, 1989. Vol. 3. pp. 475–516.

12. Rahman I., Adcock I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. // *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 219–242.

13. Vladimirov Y. A. Studies of antioxidants with chemiluminescence // In: Proceedings of the International Symposium on Natural Antioxidants. Molecular Mechanisms and Health Effects. Packer L., Traber M.G., and Xin W. (Eds.), 1996, pp. 125–144.

### Рецензенты:

Голуб И.Е., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Иркутск;

Шолохов Л.Ф., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, г. Иркутск.

Работа поступила в редакцию 28.11.2014.