

## ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ СИНДРОМЕ ДЛИТЕЛЬНОГО СДАВЛЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Елена Семеновна ЛУКЬЯНОВА, Дмитрий Борисович КУЗЬМЕНКО, Анатолий Васильевич ЕФРЕМОВ

ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава  
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Изучали закономерности изменений в системе микросомального окисления ксенобиотиков в различные периоды экспериментального синдрома длительного сдавления средней степени тяжести на крысах-самцах породы Вистар. При синдроме длительного сдавления происходит депрессия системы микросомального окисления ксенобиотиков, не только в ранние периоды декомпрессии, лишь к 14-м суткам наблюдается постепенное восстановление ее функции. Действие биофлавоноидов манжетки обыкновенной препятствует снижению количества цитохромов микросомальной фракции печени, но приводит к депрессии метаболизма ксенобиотиков.

**Ключевые слова:** синдром длительного сдавления, микросомальное окисление, ксенобиотики.

В последние десятилетия в России, как и во всем мире, отмечалась тенденция к росту количества чрезвычайных ситуаций (природных, техногенных, социальных и других катастроф), сопровождавшихся значительным числом человеческих жертв. Наибольшую настороженность вызывает увеличение числа так называемых техногенных, комплексных и задуманных человеком катастроф. Синдром длительного сдавления (СДС) является тяжелой патологией и, как правило, встречается массово в военное время и в сейсмоопасных районах [1]. Состояние печени в связи с ее доминирующей ролью в организме по клирингу гетеро- и аутоксинам, ксенобиотиков, в том числе и плазмозамещающих растворов, как центрального органа гомеостаза имеет определяющее значение в исходе СДС. В настоящее время система детоксикации чужеродных соединений (ксенобиотиков) в печени рассматривается как совокупность ферментных комплексов, встроенных в мембрану эндоплазматического ретикула гепатоцитов и представляет собой кооперативные системы с тесной связью структуры и функции. Факторы, лимитирующие скорость метаболизма ксенобиотиков при синдроме длительного сдавления, остаются малоизученными.

Цель исследования — выявить закономерности изменений в системе микросомального окисления ксенобиотиков в различные периоды экспериментального СДС.

### Материал и методы

Экспериментальные животные — 77 крыс-самцов породы Вистар массой 180–200 г в возрасте 5–6 месяцев. Моделировали СДС средней степени тяжести [2]. Коррекцию развития СДС прово-

дили реополиглюкином и экстрактом манжетки обыкновенной. Выбранная нами схема введения реополиглюкина основана на рекомендациях по оказанию первой медицинской помощи пострадавшим с СДС, экстракт манжетки обыкновенной использовали в связи с тем, что высокая антирадикальная активность соединений манжетки обыкновенной оказывает цитопротекторный эффект при СДС [1]. Забор материала проводился под эфирным наркозом, в соответствии с международными требованиями гуманного отношения к животным. Группы животных формировали в соответствии с целью эксперимента. Первая группа — крысы с СДС средней степени тяжести. Вторая группа — крысы с СДС средней степени тяжести, леченные интраперитонеальными инфузиями 10%-ного раствора реополиглюкина с молекулярной массой 30–40 кДа с добавлением изотонического раствора хлорида натрия, в дозе 10 мл на 1 кг массы тела (средняя терапевтическая доза 6–10 мл на 1 кг массы тела), трижды с интервалом в одни сутки, первое введение через 5 минут после снятия тисков. Третья группа — крысы с СДС средней степени тяжести после инъекции раствора экстракта манжетки обыкновенной, который вводили в дозе 25 мг на 1 кг массы тела животного (0,25 LD<sub>50</sub>) внутривентрально трижды с интервалом в одни сутки, первое введение через 5 минут после снятия тисков. Четвертая группа — интактные животные (контроль). Биофлавоноиды, полученные из корней и корневищ манжетки обыкновенной, представлены в готовой для внутривентрального введения форме лабораторией фитохимии Центрального Сибирского ботанического сада СО РАН. Исследования проводили в 1-е, 3-е, 7-е, 14-е сутки после

Лукьянова Е.С. — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии; e-mail: dr172@mail.ru

Кузьменко Д.Б. — к.м.н., ассистент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии  
Ефремов А.В. — д.м.н., проф., зав. кафедрой патологической физиологии и клинической патофизиологии, чл.-кор. РАН; e-mail: AVE 48@yandex.ru

декомпрессии. Микросомальную фракцию печени выделяли дифференциальным центрифугированием [3]. Количественное определение цитохрома Р450, цитохрома  $b_5$  печени и анализ скорости реакций N-деметилирования (амидопирина), гидроксилирования (анилина) проводили по методике Мухамбетовой Л.Х. и соавт. [4].

Все экспериментальные данные подвергали статистической обработке с вычислением средней арифметической (М), ошибки средней арифметической (m). Достоверность различий (p) экспериментальных данных рассчитывали с использованием критерия t Стьюдента. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$  [5].

#### Результаты

Декомпрессионный период СДС характеризовался выраженным уменьшением количества цитохромов в микросомальной фракции печени (табл. 1). Максимальное снижение содержания цитохрома Р-450 приходилось на 1-е и 3-и сутки декомпрессионного периода, составив соответственно 30,1 и 28,1 % от контроля ( $p < 0,05$ ). 7-е и 14-е сутки декомпрессии характеризовались некоторой нормализацией исследуемых показателей, величины которых перестали отличаться от контрольных значений. Динамика изменения содержания цитохрома  $b_5$  в микросомальной фракции печени также характеризовалась его резким снижением на 1-е сутки декомпрессии до 22,6 % от контроля ( $p < 0,05$ ). К 3-м суткам декомпрессии концентрация цитохрома  $b_5$  составляла 69,6 % от контроля, оставаясь достоверно ниже его уров-

ня. На 7-е и 14-е сутки количество цитохрома  $b_5$  не отличалось от контроля.

Изучая микросомальное превращение амидопирина и анилина, мы установили, что в декомпрессионном периоде СДС происходит значительное ограничение скорости метаболизма данных субстратов (табл. 2). Однако динамика нарушений гидроксилирования субстратов 1-го и 2-го типов носила неоднозначный характер. Так, скорость N-деметилирования амидопирина максимально снизилась к 1-м суткам (на 66 %). Далее происходило постепенное увеличение скорости метаболизма субстрата 2-го типа, которая на 3-е сутки составила 50,2 %, на 7-е – 67,0 %, на 14-е – 79,0 % от контрольной ( $p < 0,05$ ). Скорость р-гидроксилирования анилина уменьшалась на 1-е сутки декомпрессии до 65,2 % от контроля. На 3-е сутки интенсивность метаболизма возросла до 82,6 %, вновь снизившись до 65,2% ( $0,15 \pm 0,01$ ) к 7-м суткам декомпрессионного периода (все вышеуказанные изменения достоверно ниже контрольных значений). На 14-е сутки произошло резкое, почти в 1,5 раза, возрастание скорости метаболизма субстрата 1-го типа.

Изучали состояние микросомального окисления при применении реополиглюкина в 1-е и 3-и сутки после декомпрессии, характеризующиеся максимальными изменениями показателей при развитии СДС без коррекции. Проведенные исследования показали, что количество цитохрома Р-450 после коррекции реополиглюкином было достоверно ниже контрольных значений на оба

Таблица 1

Влияние реополиглюкина и экстракта манжетки обыкновенной на изменение концентрации цитохромов Р-450 и  $b_5$  в микросомах печени крыс при СДС в различные сроки после декомпрессии ( $M \pm m$ )

Концентрация цитохрома (нмоль/мг белка микросом)	Контроль	Декомпрессионный период			
		1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Цитохром Р-450:					
без лечения	1,53 ± 0,19	0,46 ± 0,05*	0,43 ± 0,19*	1,15 ± 0,19	1,29 ± 0,09
после лечения реополиглюкином		0,43 ± 0,08*	0,41 ± 0,15*		
после лечения экстрактом манжетки		1,16 ± 0,15#	0,92 ± 0,17#		
Цитохром $b_5$	1,02 ± 0,11	0,23 ± 0,01*	0,71 ± 0,10*	0,94 ± 0,04	0,82 ± 0,03*
после лечения реополиглюкином		0,19 ± 0,05*	0,64 ± 0,09*		
после лечения экстрактом манжетки		0,83 ± 0,09#	1,08 ± 0,09#		

Примечание: здесь и в табл. 2: \* – отличие от величины соответствующего показателя у интактных животных достоверно при  $p < 0,05$ ; # – отличие от величины соответствующего показателя у животных с СДС без лечения достоверно при  $p < 0,05$ .

Таблица 2

Влияние реополиглюкина и экстракта манжетки обыкновенной на изменения скорости митохондриального метаболизма амидопирина и анилина в печени крыс при СДС в различные сроки после декомпрессии ( $M \pm t$ )

Показатель	Контроль	Декомпрессионный период			
		1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
N-деметилирование амидопирина (нмоль формальдегида в 1 мин на 1 мг белка):					
без лечения	2,09 ± 0,03	0,92 ± 0,04*	1,05 ± 0,12*	1,40 ± 0,08*	1,65 ± 0,09*
после лечения реополиглюкином		0,31 ± 0,05* <sup>#</sup>	0,91 ± 0,08*		
после лечения экстрактом манжетки		0,36 ± 0,04* <sup>#</sup>	1,07 ± 0,09*		
p-гидроксилирование анилина (нмоль p-аминофенола в 1 мин на 1 мг белка):					
без лечения	0,23 ± 0,03	0,15 ± 0,01*	0,19 ± 0,03*	0,15 ± 0,01*	0,33 ± 0,03*
после лечения реополиглюкином		0,03 ± 0,01* <sup>#</sup>	0,17 ± 0,03*		
после лечения экстрактом манжетки		0,02±0,00* <sup>#</sup>	0,16±0,02*		

срока наблюдений (28,1 и 27,6 % от соответствующих величин у интактных животных,  $p < 0,05$ ) и не отличалось от содержания цитохрома P-450 у нелеченных животных (табл. 1).

Количество цитохрома  $b_5$  при СДС в 1-е сутки после компрессии составило 18,6 % от показателя интактных крыс, к 3-м суткам – 62,7 %, в обоих случаях значимых отличий от величин, полученных у животных с СДС без применения реополиглюкина, не выявлено. Таким образом, введение реополиглюкина при СДС не влияет на изменение содержания цитохромов в митосомах печени. Скорость метаболизма амидопирина после введения реополиглюкина достоверно снижалась на 1-е сутки декомпрессии по отношению как к интактным животным, так и к животным, не получавшим препарата. К 3-м суткам интенсивность метаболизма амидопирина у леченных животных выравнивалась с таковой у нелеченных, оставаясь достоверно ниже, чем у интактных крыс. Подобная динамика была характерна и для скорости метаболизма анилина: после резкого снижения на 1-е сутки, достоверного по отношению к интактным и нелеченым животным, на 3-и сутки после декомпрессии она переставала отличаться от показателей нелеченных животных, по-прежнему оставаясь достоверно ниже, чем у интактных крыс.

Таким образом, введение реополиглюкина приводило к резкому угнетению скорости метаболизма субстратов как 1-го, так и 2-го типов в 1-е сутки декомпрессионного периода СДС по сравнению с

нелечеными животными, но к 3-м суткам происходило возрастание активности метаболизма до уровня животных с СДС без лечения.

Применение биофлавоноидов манжетки обыкновенной приводило к достоверному снижению количества цитохрома P-450 в 1-е сутки декомпрессионного периода до 75,8 % от значений интактных животных (табл. 1). Уровень цитохрома P-450 у нелеченных животных в этот же период СДС был в 2,5 раза ниже, чем у получивших экстракт манжетки обыкновенной. На 3-е сутки декомпрессии у животных, получивших препарат, происходило уменьшение содержания цитохрома P-450 до 60,1 % от уровня интактных животных. У крыс, не получавших препарат, на 3-е сутки СДС митохондриальная фракция содержала цитохрома P-450 меньше на 53,3 %, различия достоверны.

Количество цитохрома  $b_5$  при СДС в 1-е и 3-и сутки после декомпрессии на фоне применения биофлавоноидов манжетки обыкновенной достоверно не отличалось от такового у интактных животных. У нелеченных животных уровень цитохрома  $b_5$  в эти сроки наблюдения был соответственно в 3,6 и в 1,5 раза ниже, чем у животных, получивших лечение. Выявленные факты свидетельствуют, что введение биофлавоноидов манжетки обыкновенной при СДС предотвращает снижение содержания цитохромов в митосомах печени. Скорость метаболизма амидопирина после инъекции манжетки обыкновенной досто-

верно снижалась на 1-е сутки декомпрессии относительно показателей как интактных животных, так и животных, не получавших препарат. К 3-м суткам интенсивность метаболизма амидопирина у леченных животных выравнивалась с таковой у нелеченных, но была достоверно ниже, чем у интактных крыс. Подобная динамика была характерна и для скорости метаболизма анилина: после резкого снижения на 1-е сутки, достоверного по отношению к интактным и нелеченым животным, к 3-м суткам после декомпрессии она не отличалась от значений нелеченных животных, оставаясь достоверно ниже скорости метаболизма анилина микросомами интактных животных.

Введение манжетки обыкновенной привело к резкому угнетению метаболизма субстратов как 1-го, так и 2-го типов в 1-е сутки декомпрессионного периода СДС по сравнению с нелечеными животными, но к 3-м суткам происходило возрастание активности метаболизма до уровня животных с СДС без лечения.

#### Обсуждение

В функциональном отношении общепринято, что цитохром Р-450 является ферментным белком, осуществляющим связывание молекул ксенобиотиков и активирование молекулярного кислорода в реакциях монооксигеназного типа [3]. При СДС резко снижается детоксикационная функция печени [6]. Система цитохрома Р-450 относится к одной из самых древних ферментативных систем, изоформы цитохрома Р-450 локализованы в различных органах и тканях и наиболее хорошо представлены в эндоплазматическом ретикулуле и митохондриях [2]. Реакции метаболизма различных эндогенных и экзогенных соединений происходят с участием ферментов цитохрома Р-450. Один из компонентов системы цитохрома Р-450 цитохром  $b_5$ , локализованный в наружной мембране митохондрий, участвует в разнообразных биохимических окислительно-восстановительных реакциях в качестве переносчика электронов, в его присутствии в монооксигеназном цикле наблюдается более активное образование метаболитов [7]. Цитохром  $b_5$  взаимодействует с Р-450 и в ряде случаев повышает скорость образования активного кислорода, оказывает защитное действие на молекулы терминальной оксигеназы, повышает эффективность окислительно-восстановительных реакций [7]. В нашем исследовании динамика изменения содержания цитохрома  $b_5$  в микросомальной фракции печени заключалась в его резком снижении в 1-е сутки декомпрессии, увеличении к 3-м суткам декомпрессии (но не достигающем контрольных значений) и восстановлении к 14-м суткам, когда оно не отличалось от контрольного уровня. Изучая микросомальное превращение анилина и амидопирина, мы установили, что в декомпрессионном периоде СДС происходит значительное ограничение скорости метаболизма

данных субстратов, скорость гидроксилирования анилина снижалась на 1-е сутки декомпрессии, на 3-и сутки интенсивность метаболизма возросла до 82,6 % от исходной, на 14-е сутки произошло резкое, почти в 1,5 раза, возрастание скорости метаболизма по сравнению с исходной. Выявленное нами несоответствие между относительно нормальным содержанием цитохромов и сниженным при этом метаболизмом ксенобиотиков, вероятно, связано с эндотоксикозом при СДС, который угнетает активность ферментных систем. Применение реополиглокина выявило значительное снижение концентрации цитохромов. Объяснить данный факт можно с позиций блокирования реополиглокином фагоцитирующего потенциала клеток Купфера и возникающим вслед за этим выраженным токсическим ударом по метаболическим системам гепатоцитов [1], что тормозит возобновление количеств ферментов в клетках. Применение экстракта манжетки обыкновенной способствовало лучшей сохранности цитохромов в клетках, однако скорости метаболизма ксенобиотиков оставались значительно сниженными. Этот факт мы связываем с цитопротекторным действием биофлавоноидов, позволяющим сохранять целостность клеток, а вместе с тем и количества цитохромов. С другой стороны, эндотоксикоз, вероятно, вызывал значительное снижение активности ферментных систем и снижение скорости метаболизма ксенобиотиков. Применение экстракта манжетки обыкновенной было интересным с позиций цитопротекторного эффекта.

#### Заключение

Таким образом, при СДС происходит депрессия системы микросомального окисления ксенобиотиков, причем не только в ранние периоды декомпрессии — лишь к 14-м суткам наблюдается постепенное восстановление ее функции. Действие биофлавоноидов манжетки обыкновенной препятствует снижению количества цитохромов микросомальной фракции печени, но приводит к депрессии метаболизма ксенобиотиков.

#### Список литературы

1. Ефремов А.В., Антонов А.Р., Начаров Ю.В. Лимфология экстремальных состояний. М.: Триада-Х, 2005. 248 с.  
*Efremov A.V., Antonov A.R., Nacharov Yu.V. Lymphology of extreme states. M.: Triada-X, 2005. 248 p.*
2. Bhagwat S.V., Mullick J., Raza H., Avadhani N.G. Constitutive and inducible cytochromes P450 in rat lung mitochondria: xenobiotics induction, relative abundance, and catalytic properties // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999. 156. (3). 231–240.
3. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. М.: Наука, 1975. 327 с.  
*Archakov A.I. Microsomal oxidation. M.: Nauka, 1975. 327 p.*

4. *Muhambetova L.H., Dolinskaya S.J., Nasonova A.A., Avaliani S.L.* Assessment of phase I and II xenobiotic detoxication in liver after exposure of toxic compounds // *Cytochrome P450 Biochemistry and Biophysics: Proc. 7-th Int. Conf. Biotechnol. and Ecol. Aspects*, Moscow, July 28 – August 2, 1991. M., 1992. 580–582.

5. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 133с.

*Avtandilov G.G.* Medical morphometry. M.: Meditsine, 1990. 133 p.

6. *Кричевский А.Л.* Тяжелая компрессионная травма конечности и ее лечение. Томск, 1991. 233 с.

*Krichevsky A.L.* Heavy compression trauma of extremity and its treatment. Tomsk, 1991. 233 p.

7. *Porter T.D.* The roles of cytochrome b5 in cytochrome P450 reactions // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2002. 16. (6). 311–316.

## PECULIARITIES OF MICROSOMAL OXIDATION SYSTEM UNDER CRASH SYNDROME IN EXPERIMENT

**Elena Semenovna LUK'YANOVA, Dmitrii Borisovich KUZ'MENKO, Anatolii Vasil'evich EFREMOV**

*Novosibirsk State Medical University of Roszdrav  
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

---

The mechanism of alterations in different periods of experimental crash syndrome of medium-scale severity in Wistar rats has been investigated. The depression of xenobiotics microsomal oxidation system takes place under crash syndrome not only in early stages of decompression. The incremental recovery of its function was observed only to the 14th day. The effect of bioflavonoids of ladies-mantle (*Alchemilla vulgaris*) prevents the decrease in number of cytochromes of liver microsomal fractions, but leads to decline of xenobiotics microsomal oxidation.

---

**Key words:** crash syndrome, microsomal oxidization, xenobiotic.

*Luk'yanova E.S.* — candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for physiopathology and clinical physiopathology; e-mail: dr172@mail.ru

*Kuz'menko D.B.* — candidate of medical sciences, assistant of the chair for physiopathology and clinical physiopathology

*Efremov A.V.* — doctor of medical sciences, professor, head of the chair for physiopathology and clinical physiopathology, corresponding member of RAMS; e-mail: AVE 48@yandex.ru