

## ВЛИЯНИЕ ЦИТОФЛАВИНА НА БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПЕЧЕНИ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ КОМПРЕССИОННОЙ ТРАВМЕ КОНЕЧНОСТЕЙ

И. А. Юнусов, И. В. Зарубина<sup>1</sup>

В эксперименте на крысах показано, что тяжелая компрессионная травма мягких тканей конечностей сопровождается снижением энергетического потенциала печени. Введение травмированным животным цитофлавина приводит к увеличению в печени содержания АТФ, цАМФ и снижению содержания АДФ и АМФ, что восстанавливает энергетический потенциал адениннуклеотидов печени.

**Ключевые слова:** тяжелая механическая травма конечностей, энергетика, печень, цитофлавин

### ВВЕДЕНИЕ

Тяжелые механические травмы конечностей по типу синдрома длительного сдавления сопровождаются гепато-ренальными расстройствами, которые во многом определяют исходы травматической болезни. В раннем реперфузионном периоде после длительной ишемии конечностей в результате сдавления мышечных массивов значимую роль играет функциональное состояние печени, тесно связанное с ее метаболической активностью и, особенно, ее биоэнергетикой. При этом нарушения функций печени обусловлены рядом причин, в первую очередь, расстройствами центральной гемодинамики и регионарного кровотока, анемизацией печени и повреждением ее клеточных структур токсичными продуктами аутолиза травмированных тканей. Значение эндотоксикоза в патогенезе тяжелой компрессионной травмы столь велико, что одним из синонимов этой нозологической единицы является “травматический токсикоз” [8, 11]. Выделяемые при ишемии токсины повышают проницаемость митохондриальных мембран и снижают скорость дыхания и фосфорилирования, что приводит к уменьшению энергетического потенциала печени и нарушению ряда ее энергозависимых специфических функций. Многочисленные патогенетические факторы синдрома длительного сдавления сопровождаются комплексом структурных и функциональных нарушений, что в конечном итоге вызывает значительные повреждения клеток. Это явление получило название “шоковой клетки” [9].

Наиболее перспективными цитопротекторами, которые могли бы корригировать указанные нарушения, являются метаболические препараты, которые благодаря своим фармакологическим свойствам широко вошли в практическую медицину. Они отличаются высокой лечебной эффективностью и безопасностью, незначительной токсичностью, позитивным взаимодействием с другими лекарственными средствами. Среди

подобных препаратов следует выделить субстратные антигипоксанты [3]. Применение антигипоксантов при синдроме длительного сдавления определяется представлениями о направленности их основного действия при сопутствующей органопатологии и их доступностью для практических врачей. С позиций молекулярной фармакологии применение этих лекарственных средств при тяжелой компрессионной травме с сопутствующей тканевой гипоксией обусловлено возникновением субстратного “голода” вследствие нарушения поступления пирувата в цикл трикарбоновых кислот [4]. В связи с этим для повышения энергетического потенциала клетки следует использовать субстраты цикла трикарбоновых кислот и, в первую очередь, сукцинат и препараты на его основе.

В последние годы в клинической практике применяется цитофлавин, фармакологические эффекты которого обусловлены комплексным воздействием входящих в его состав инозина (20 мг), никотинамида (10 мг), рибофлавина (2 мг) и сукцината (100 мг) и, в целом, заключаются в стимулировании клеточного дыхания, процессов энергообразования и синтеза белка, утилизации глюкозы и жирных кислот, улучшении утилизации кислорода тканями, регуляции свободно-радикальных процессов [1]. На системном уровне эффекты цитофлавина проявляются в противогипоксическом, антиоксидантном, нейротропном, антитоксическом действии [2]. Влияние препарата на базальные клеточные процессы обуславливает его применение в качестве лечебного средства для коррекции метаболических процессов, в том числе при хронических отравлениях и эндотоксикозах. Отсутствие данных о применении цитофлавина при травматическом токсикозе послужило основанием для изучения влияния препарата на биоэнергетические процессы в печени при тяжелой компрессионной травме.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 108 ненаркотизированных белых беспородных крысах-самцах массой 160 – 180 г. полученных из питомника РАМН Рапполово, Ленинградской область (одобрено Комитетом по этике Воен-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6.

но-медицинской академии им. С. М. Кирова). Повреждение скелетных мышц моделировали 4-часовым сдавлением мягких тканей задних конечностей в тисках площадью 5 см<sup>2</sup> с желобообразным вырезом для предупреждения перелома бедренной кости [6]. Контролем служили иммобилизованные животные. Материал для исследования забирали, охлаждая в жидком азоте, сразу после травмы и спустя 6, 12, 24 и 72 ч. Свободные адениннуклеотиды в печени определяли тонкослойной хроматографией, разделяя их в системе диоксан — изопропанол — аммиак — вода с последующей прямой флуориметрией пластин в сканирующем устройстве спектрофлуориметра MPF-4 (“Hitachi”, Япония) [4]. В качестве свидетелей использовали хроматографически чистые аденозин-5-моно-, ди- и трифосфаты фирмы “Sigma”. Содержание циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) определяли с помощью набора реактивов Cyclic AMP Assay kit (“Amersham”, Англия). Об энергетическом потенциале печени судили по содержанию индивидуальных адениннуклеотидов и величине энергетического заряда системы адениннуклеотидов, который рассчитывали по D. Atkinson [10]. Цитофлавин (НПФ “Полисан”, Санкт-Петербург) вводили внутривентрально сразу после декомпрессии в дозе 1,5 мл/кг массы тела.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что стресс при длительном ограничении подвижности приводит к повышению уровня газообмена и интенсивности потребления кислорода тканями, снижению интенсивности синтеза тканевых белков и атрофии мышечных волокон, что связано с усилением катаболических процессов и изменением адениннуклеотидного фонда. Действительно, 4-часовая иммобилизация крыс нарушает энергетическое равновесие в печени животных.

Сразу после прекращения иммобилизации в печени крыс наблюдалось снижение содержания АТФ на фоне увеличения АДФ, АМФ и уменьшения величины энергетического заряда адениловой системы, однако изменения эти были недостоверны. Наибольшие изменения адениннуклеотидного пула наблюдали через 6 ч иммобилизации животных. Содержание АТФ в печени снижалась на 43 %, концентрация АДФ и АМФ прогрессивно возрастала на 62 и 97 % соответственно, величина энергетического заряда уменьшалась на 20 %. В более поздние сроки после иммобилизации наблюдали тенденцию к нормализации содержания адениннуклеотидов. Через сутки уровень АТФ, АДФ, АМФ, суммы адениннуклеотидов, величина энергетического заряда не отличались от содержания этих метаболитов в печени интактных крыс.

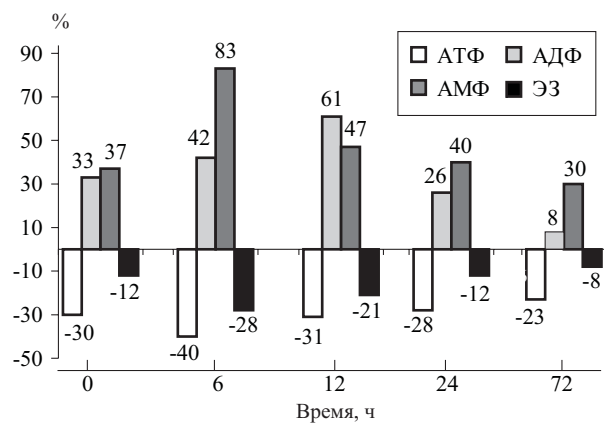
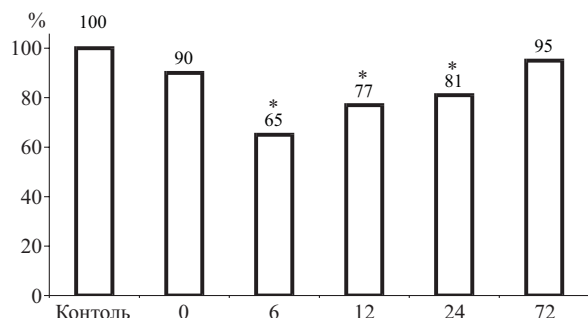


Рис. 1. Влияние тяжелой компрессионной травмы на содержание адениловых нуклеотидов в печени крыс (за 0 % принят уровень адениннуклеотидов в печени иммобилизованных животных).

Тяжелая компрессионная травма вызывала в печени крыс более глубокие нарушения энергетического обмена (рис. 1).

Так, сразу после травмы содержание АТФ снижалось на 30 %, увеличилось содержание АДФ на 33 % и АМФ на 37 % ( $p < 0,05$ ). Эти изменения адениннуклеотидного пула приводили к снижению величины энергетического заряда печени высокоэнергетическими связями на 12 % и нарушению регуляции метаболических процессов в ткани органа. Наибольшие изменения адениннуклеотидного пула наблюдали спустя 6 и 12 ч после травмы. Содержание АТФ снижалось до 40 % на фоне увеличения содержания АДФ на 42 % и АМФ на 83 %, что сопровождалось снижением до 28 % величины энергетического заряда. В дальнейшем в посттравматическом периоде, несмотря на общую тенденцию к увеличению содержания адениннуклеотидов в печени животных, величина энергетического заряда оставалась достоверно ниже контрольных значений. Через 12 ч после декомпрессии содержание АТФ и энергетический заряд адениннуклеотидов были ниже на 31 и 21 % ниже, а уровень АДФ и АМФ выше на 61 и 47 %, чем у контрольных иммобилизованных животных. Через 24 ч после травмы содержание АТФ на 28 %, энергетический заряд адениннуклеотидов на 12 % оставались ниже, а содержание АДФ и АМФ на 26 и 40 % выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Спустя трое суток после травмы уровень адениннуклеотидов и величина их энергетического заряда оставались достоверно ниже контрольных значений.

Одним из значимых регуляторов метаболического гомеостаза клетки является цАМФ, содержание которого зависит от уровня АТФ. При тяжелой компрессионной травме содержание цАМФ коррелировало с изменением содержания АТФ в печени животных, что может быть обусловлено как снижением содержания его субстрата — АТФ, так и изменением активности



**Рис. 2.** Влияние тяжелой компрессионной травмы на содержание циклического аденозинмонофосфата в печени крыс (\*  $p < 0,05$  в сравнении с контролем).

ферментов, участвующих в обмене циклофосфата (рис. 2).

Введение животным цитофлавина сразу после травмы приводило к увеличению содержания в печени АТФ на 14 %, величины энергетического заряда на 7 % и снижению АДФ и АМФ в среднем на 15 % (таблица).

Спустя 6 ч после травмы, когда изменения аденин-нуклеотидного пула были наиболее выражены, применение цитофлавина достоверно увеличивало содержание в печени животных АТФ на 55 % и энергетический заряд на 25 %, а также снижало содержание АДФ на 18 % и АМФ на 23 % ( $p < 0,05$ ). Спустя 12 ч после

травмы содержание АТФ в печени крыс увеличивалось на 11 %, энергетический заряд — на 13 %, содержание АДФ и АМФ снижалось на 21 и 18 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Через сутки после травмы на фоне действия цитофлавина уровень АТФ увеличивался на 29 %, энергетический заряд — на 11 %; содержание АДФ снижалось на 28 % и АМФ на 19 % ( $p < 0,05$ ). К третьим суткам посттравматического периода уровень адениннуклеотидов и их энергетический заряд в печени животных, получавших цитофлавин, достоверно не отличался от значений у интактных животных. Наряду с этим увеличивалось содержание в печени циклического аденозинмонофосфата через 6 ч после травмы на 32 %, 12 ч — на 24 %, спустя сутки — на 20 % ( $p < 0,05$ ).

Известно, что тяжелая компрессионная травма вызывает нарушения кровообращения в печени. Существенной особенностью печеночного кровотока является его большая интенсивность, связанная с высоким уровнем метаболических процессов в печени. Однако в компрессионном периоде и после декомпрессии наблюдается относительное уменьшение кровенаполнения печени, а в позднем декомпрессионном периоде развивается анемизация печени [8]. Нарушение циркуляции крови в печени является основным механизмом расстройств кислородного режима органа при тяжелой травме. В раннем посттравматическом периоде напряжение кислорода в печени уменьшается параллельно

#### Влияние цитофлавина на содержание адениловых нуклеотидов в печени крыс после тяжелой компрессионной травмы ( $M \pm m$ , $n = 10$ )

Время после воздействия, ч	Воздействие	АТФ, мкмоль/г	АДФ, мкмоль/г	АМФ, мкмоль/г	Энергетический заряд адениловой системы	цАМФ, нмоль/г
Интактные животные	—	3,28 ± 0,12	0,52 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,859 ± 0,007	985 ± 35
0	Иммобилизация	2,85 ± 0,11	0,67 ± 0,05	0,41 ± 0,03	0,810 ± 0,007	900 ± 37
	Травма	2,00 ± 0,09 <sup>аб</sup>	0,89 ± 0,06 <sup>аб</sup>	0,56 ± 0,01 <sup>аб</sup>	0,709 ± 0,007 <sup>аб</sup>	783 ± 34 <sup>аб</sup>
	Травма + цитофлавин	1,88 ± 0,05 <sup>ав</sup>	0,95 ± 0,05 <sup>а</sup>	0,48 ± 0,05 <sup>ав</sup>	0,711 ± 0,007 <sup>а</sup>	810 ± 42 <sup>а</sup>
6	Иммобилизация	1,88 ± 0,12 <sup>а</sup>	0,84 ± 0,07 <sup>а</sup>	0,63 ± 0,13 <sup>а</sup>	0,687 ± 0,007 <sup>а</sup>	825 ± 24 <sup>а</sup>
	Травма	1,12 ± 0,14 <sup>аб</sup>	1,19 ± 0,11 <sup>аб</sup>	1,15 ± 0,13 <sup>аб</sup>	0,496 ± 0,007 <sup>аб</sup>	565 ± 35 <sup>аб</sup>
	Травма + цитофлавин	1,54 ± 0,15 <sup>ав</sup>	0,98 ± 0,05 <sup>а</sup>	0,88 ± 0,08 <sup>а</sup>	0,597 ± 0,007 <sup>ав</sup>	678 ± 26 <sup>ав</sup>
12	Иммобилизация	2,27 ± 0,11 <sup>а</sup>	0,62 ± 0,08 <sup>а</sup>	0,59 ± 0,07 <sup>а</sup>	0,739 ± 0,007 <sup>а</sup>	886 ± 28 <sup>а</sup>
	Травма	1,57 ± 0,12 <sup>аб</sup>	1,00 ± 0,07 <sup>аб</sup>	0,87 ± 0,09 <sup>аб</sup>	0,585 ± 0,007 <sup>аб</sup>	671 ± 32 <sup>аб</sup>
	Травма + цитофлавин	1,74 ± 0,09 <sup>ав</sup>	0,79 ± 0,05 <sup>ав</sup>	0,71 ± 0,05 <sup>а</sup>	0,659 ± 0,007 <sup>ав</sup>	745 ± 28 <sup>ав</sup>
24	Иммобилизация	2,77 ± 0,14 <sup>а</sup>	0,62 ± 0,17	0,42 ± 0,09	0,808 ± 0,007	885 ± 25
	Травма	1,99 ± 0,25 <sup>аб</sup>	0,78 ± 0,16 <sup>аб</sup>	0,59 ± 0,08 <sup>аб</sup>	0,708 ± 0,007 <sup>аб</sup>	705 ± 32 <sup>аб</sup>
	Травма + цитофлавин	2,57 ± 0,05 <sup>б</sup>	0,66 ± 0,11 <sup>б</sup>	0,48 ± 0,05 <sup>б</sup>	0,782 ± 0,007 <sup>б</sup>	800 ± 27 <sup>б</sup>
72	Иммобилизация	2,85 ± 0,05	0,66 ± 0,15	0,40 ± 0,08	0,813 ± 0,007	946 ± 34
	Травма	2,20 ± 0,07 <sup>а</sup>	0,71 ± 0,13 <sup>а</sup>	0,52 ± 0,07 <sup>а</sup>	0,745 ± 0,007 <sup>а</sup>	817 ± 32 <sup>аб</sup>
	Травма + цитофлавин	3,18 ± 0,05 <sup>б</sup>	0,51 ± 0,10 <sup>б</sup>	0,35 ± 0,05 <sup>б</sup>	0,842 ± 0,007 <sup>б</sup>	910 ± 38 <sup>б</sup>

**Примечание.** Различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) в сравнении: <sup>а</sup> — с интактными животными, <sup>б</sup> — с иммобилизацией, <sup>в</sup> — с травмой.

снижению скорости кровотока в ней и незадолго до гибели животных составляет 17–32 % от исходной величины. Кислородный режим органа определяет характер и направление его метаболизма, а, следовательно, и функциональную активность печени. Неполноценность системы окислительного фосфорилирования, интенсификация катаболических реакций и снижение анаболических приводит к субстратному и энергетическому истощению [1, 8]. Наблюдаемое нами прогрессивное снижение макроэргических фосфатов в печени при тяжелой компрессионной травме свидетельствует о нарушении митохондриальной выработки АТФ и ингибировании гликолитического пути освобождения энергии. Наиболее выраженные изменения адениннуклеотидного пула обнаружены через 6 ч после травмы, а к третьим суткам энергетический заряд адениловой системы оставался ниже, чем у интактных животных. Введение животным цитофлавина приводило к восстановлению пула адениннуклеотидов в печени на 3-и сутки посттравматического периода, что, по-видимому, обусловлено энергостабилизирующим действием входящего в состав препарата сукцината. Энерготропные свойства сукцината разнообразны [5]. В частности, сукцинат стимулирует синтез восстановительных факторов в клетке, стабилизирует структуру и функцию митохондрий, регулирует активность цитохромоксидазы, является индуктором синтеза некоторых белков, влияет на ионный обмен в клетке, участвует в липидном обмене [2]. Кроме того, сукцинат положительно влияет на оксигенацию внутриклеточной среды и выполняет регуляторную функцию сигнальных молекул, участвующих в поддержании метаболического гомеостаза на системном уровне. Эти свойства сукцината как фармакологического средства обуславливают правомочность применения сукцинатсодержащих фармакологических средств для коррек-

ции метаболической активности печени при тяжелой компрессионной травме.

## ВЫВОДЫ

1. Тяжелая компрессионная травма сопровождается снижением содержания АТФ, цАМФ и величины энергетического заряда адениловой системы на фоне увеличения содержания АДФ и АМФ.

2. Системное введение крысам цитофлавина (1,5 мл/кг) повышает энергетический потенциал печени и восстанавливает его на третьи сутки посттравматического периода, что свидетельствует о его выраженных энергостабилизирующих свойствах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Афанасьев, *Цитофлавин в интенсивной терапии: Посobie для врачей*, Санкт-Петербург (2005), сс. 1–36.
2. М. К. Бизенкова, М. Г. Романцов, Г. А. Афанасьева, Н. П. Чеснокова, *Усп. современного естествознания*, 4, 28–29 (2006).
3. И. В. Зарубина, *Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапия*, 1(1), 19–28 (2002).
4. И. В. Зарубина, Б. И. Криворучко, *Укр. биохим. журн.*, 69(4), 437–439 (1982).
5. И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Молекулярная фармакология антигипоксантов*, Н-Л, Санкт-Петербург (2004), сс. 1–368.
6. В. К. Кулагин, *Патологическая физиология травмы и шока*, Медицина, Ленинград (1978), сс. 1–296.
7. Э. А. Нечаев, А. К. Ревской, Г. Г. Савицкий, *Синдром длительного сдавления: руководство для врачей*, Медицина, Москва (1993), сс. 1–207.
8. С. А. Селезнев, *Печень в динамике травматического шока*, Медицина, Ленинград (1971), сс. 1–118.
9. Ю. Шутеу, Т. Бэндило, А. Кофрице, *Шок. Терминология, классификация, шоковая клетка, патофизиология и лечение*, Бухарест (1981), 1–320.
10. D. Atkinson, *Biochemistry*, 7(10), 4030–4034 (1968).
11. E. G. L. Wywaters, *Brit. Med. J.*, 301, 1412–1415 (1990).

Поступила 25.02.09

## EFFECT OF CYTOFLAVINE ON BIOENERGETIC PROCESSES IN THE LIVER AFTER SEVERE LIMB COMPRESSION TRAUMA

I. A. Yunusov and I. V. Zarubina

State Military Medical Academy, ul. Akademika Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044, Russia

The experiments on rats showed that severe compression trauma of limb muscles leads to a decrease in the energetic potential of the liver. Cytoflavine injected in rats with model traumas increased the content of ATP and cAMP and decreased the level of ADP and AMP, thus recovering the energetic potential of adenine nucleotides in the liver.

**Key words:** Severe compression trauma of limbs, energetics, liver, cytoflavine