

М.Л. Лебедь<sup>1</sup>, М.Г. Кирпиченко<sup>1</sup>, С.Н. Бочаров<sup>1,2</sup>, В.В. Гуманенко<sup>2</sup>, Л.В. Родионова<sup>1</sup>

## ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ СКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ

<sup>1</sup> ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (Иркутск)

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (Иркутск)

Эксперимент воспроизводил модель множественной скелетной травмы (перелома костей правого предплечья и левой голени) со стабилизацией отломков в аппаратах внешней фиксации у 35 кроликов породы Шиншилла. Все манипуляции проводились в условиях общей анестезии. Стандартное лечение включало обезболивание, антибиотикопрофилактику и инфузионную терапию по общепринятой методике. В первой группе лабораторных животных на фоне стандартного лечения было зарегистрировано снижение активности метаболизма. Поэтому во второй группе кроликов в послеоперационном периоде с целью коррекции посттравматического гипобоза, помимо стандартного лечения, парентерально назначали дексаметазон и адреналин в средних рекомендованных дозах. Лабораторный контроль через несколько часов после инъекции подтвердил стабильное повышение уровня кортикостероидов в крови, при этом зарегистрировать увеличение концентрации адреналина уже не удавалось. Для изучения связи концентрации эндогенных гормонов в крови и активности метаболизма у кроликов в условиях множественной скелетной травмы был проведён корреляционный анализ. При рассмотрении данных единым массивом была установлена высокая значимая ( $p < 0,001$ ) прямая умеренная связь между показателями ректальной температуры и концентрацией в крови свободного тироксина ( $r_s = 0,414$ ), при этом на 3-и сутки после травмы эта связь была сильной ( $r_s = 0,833$  при  $p < 0,001$ ). Также была установлена обратная умеренная связь между показателями ректальной температуры и концентрацией в крови лабораторных животных кортизола ( $r_s = 0,49$  при  $p < 0,001$ ). Изучение влияния адреналина и норадреналина на показатели, характеризующие активность метаболизма, не дало статистически значимых результатов. Полученные данные позволили сделать вывод о важной роли эндокринной активности щитовидной железы в формировании стратегии адаптации.

**Ключевые слова:** кролики, множественная скелетная травма, гормональный профиль, адреналин, дексаметазон

## HORMONAL TYPE IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL MULTIPLE SKELETAL TRAUMA

M.L. Lebed<sup>1</sup>, M.G. Kirpichenko<sup>1</sup>, S.N. Bocharov<sup>1,2</sup>, V.V. Gumanenko<sup>2</sup>, L.V. Rodionova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

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

In experiment reproduced model of multiple skeletal trauma (fracture of bones of right forearm and left shin) with stabilization of fragments with external fixation devices in 35 Chinchilla rabbits. All manipulations were realized at general anesthesia. Standard treatment included anesthesia, antibiotic prophylaxis and infusion therapy by common method. Decrease of metabolism activity was registered in the first group of laboratory animals at the standard treatment. That's why besides standard treatment dexamethasone and adrenaline in average recommended doses was prescribed in the second group of rabbits in postoperative period for correction of posttraumatic hypobiosis. Laboratory control in several hours after the injection confirmed stable increase of level of corticosteroids in blood but it wasn't possible to register increase of concentration of adrenaline. Correlation analysis was realized to study the connection between the concentration of endogenous hormones in blood and metabolism activity in rabbits in conditions of multiple skeletal trauma. At the consideration data as one array we determined high-significant ( $p < 0,001$ ) direct moderate correlation between the values of rectal temperature and the concentration of free thyroxine in blood ( $r_s = 0,414$ ), this connection was strong on the 3<sup>rd</sup> day after trauma ( $r_s = 0,833$ ;  $p < 0,001$ ). Also indirect moderate correlation between values of rectal temperature and the concentration of cortisol in blood of laboratory animals was registered ( $r_s = 0,49$ ;  $p < 0,001$ ). The results of study of influence of adrenaline and noradrenaline on the indices of metabolism activity weren't statistically significant. Obtained data allowed to make a conclusion about importance of endocrine activity of thyroid gland in the formation of adaptation strategy.

**Key words:** rabbits, multiple skeletal trauma, hormonal type, adrenaline, dexamethasone

### ВВЕДЕНИЕ

В ранее изданной публикации мы уже представляли результаты исследования, демонстрирующие толерантный (пассивный) тип адаптации лабораторных животных, кроликов породы Шиншилла, в условиях экспериментальной множественной скелетной травмы [2]. Важнейшим инструментом формирования защитно-приспособительных реакций при

повреждениях скелета являются изменения гормонального профиля организма [1]. В нашем исследовании гормональная реакция на травму отражала выраженную активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при сохранении функционального состояния симпатoadrenalовой системы на исходном уровне и отчётливой тенденции к гипофункции щитовидной железы [2].

Чтобы установить либо опровергнуть защитный характер посттравматического гипобиоза у лабораторных животных, была сформирована новая экспериментальная группа, в которой кроликам в посттравматическом периоде помимо стандартного лечения вводились препараты, препятствующие адаптации по толерантному (пассивному) типу — адреналин и дексаметазон в средних рекомендованных дозах.

Лекарственные препараты, которые вводились кроликам после травмы (адреналин и дексаметазон), являются синтетическими аналогами эндогенных гормонов. Инъекции названных препаратов производились для усиления влияния симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Однако обе стресс-реализующие системы имеют механизмы отрицательной обратной регуляции [5]. При введении экзогенных аналогов выброс эндогенных гормонов теоретически может уменьшаться. Поэтому исследование гормонального профиля у кроликов на фоне введения адреналина и дексаметазона представлялось нам актуальным.

Ещё одной важной задачей настоящего исследования был вопрос о влиянии каждого из изученных эндогенных гормонов на формирование адаптации в условиях множественной скелетной травмы.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были кролики породы Шиншилла мужского пола в возрасте от 6 до 12 месяцев. Все манипуляции с животными производились на базе вивария 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».

В двух группах лабораторных животных воспроизводили модель множественной скелетной травмы. 22 животным группы № 1 в условиях общей анестезии производили стабилизацию костей правого предплечья и левой голени спицевым аппаратом внешней фиксации из 2 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. У 13 кроликов 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 до-

полнительно парентерально назначали адреналин 2,5–3 мкг/кг/сутки и дексаметазон 4–6 мг/кг/сутки в течение 3 суток после травмы. До операции, а также в 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции всем животным производили забор венозной крови для определения гормонального профиля и производили измерение ректальной температуры электронным термометром. Исследования концентрации кортизола, адреналина, норадреналина и свободного тироксина выполнены методом иммуноферментного анализа на базе научно-лабораторного отдела ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН. Показатель ректальной температуры использовали для характеристики активности метаболизма.

Статистическая обработка данных проводилась методами описательной статистики, сравнения выборок (U-критерий Манна – Уитни) и определения корреляционной зависимости (коэффициент ранговой корреляции Спирмена). Уровень статистической значимости принят равным 0,05. Обработка данных проводилась с использованием программы R (версия 2.13.1.) Результаты исследования представлены в виде медианы, 25-й и 75-й перцентилей.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 и в таблицах 1–3 продемонстрированы результаты исследования в крови лабораторных животных концентрации кортизола, адреналина, норадреналина и свободного тироксина.

Исходный показатель кортизолемии у лабораторных животных группы № 2 составил 52,9 (46,6–74,1) нмоль/л и не имел значимых отличий с группой № 1. Однако в условиях множественной скелетной травмы у кроликов группы № 2 зарегистрированы значительно более высокие значения показателя: 534,6 (479,8–1127,6) нмоль/л в 1-е сутки и 636,9 (431,8–1206,4) нмоль/л — на 3-и сутки. При определении концентрации кортизола в крови набором реагентов «ИммуноФА-Кортизол» перекрёстная реакция с другими стероидами возможна и составляет до 6 % [3]. Следовательно, статистически достоверное ( $p < 0,001$ ) более чем трёхкратное превышение уровня кортизолемии в послеоперационном периоде у кроликов группы № 2 над аналогичными показателями группы № 1 могло стать результатом экзогенного введения глюкокортикоида дексаметазона. Кроме того, возбуждающим эффектом на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, приводящим к выбросу эндогенного кортизола в кровь, обладает адреналин. Тем не менее, даже лишь предполагая истинное соотношение эндо- и экзогенных глюкокортикоидов в крови лабораторных животных, мы смогли констатировать достижение главной цели адаптационной терапии, каковой была имитация гиперергической реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у кроликов группы № 2 в условиях множественной скелетной травмы.

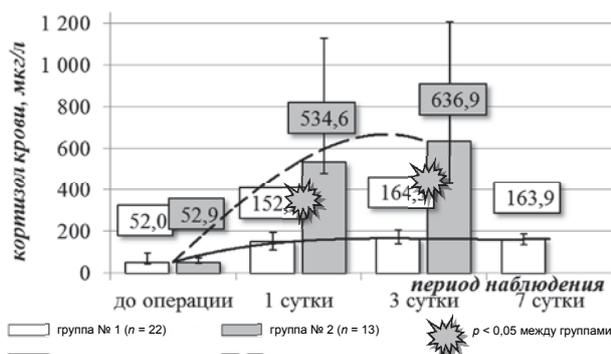


Рис. 1. Динамика кортизолемии у кроликов групп №1 и №2.

Особенности фармакокинетики лекарственного препарата адреналина гидрохлорида заключаются в быстром всасывании при подкожном введении и очень коротком времени полувыведения из крови (несколько минут). Действие подкожно введённого препарата продолжается до получаса [4, 6]. Взятие образцов крови у лабораторных животных осуществляли через несколько часов после инъекции адреналина. Поэтому лабораторный контроль не подтвердил повышение уровня адреналинемии у кроликов группы №2 за счёт экзогенного введения препарата. Сравнение представленных в таблице 1 данных о концентрации адреналина в крови не выявило статистически значимых отличий между группами №1 и №2. В то же время при аутопсии внутренних органов животных группы №2 мы на-

блюдали проявления системного действия адреналина, к которым относится увеличение наполнения мочевого пузыря за счёт сокращения сфинктера и расслабления детрузора [6].

Статистический анализ результатов исследования норадреналина и свободного тироксина не подтвердил достоверность межгрупповых различий показателей в группах №1 и №2 ни на одном из этапов эксперимента.

Таким образом, адаптационная терапия в составе дексаметазона и адреналина в средних рекомендованных дозах позволила обеспечить у кроликов группы №2 стабильно высокий уровень глюкокортикостероидной активности и, вероятно, два непродолжительных пика подъёма концентрации адреналина в крови.

Для исследования влияния изученных гормонов на формирование адаптации был использован корреляционный анализ. Поскольку задачей исследования было изучение вклада эндогенных гормонов в формирование адаптации, корреляция изучалась только в группе №1. При рассмотрении всего массива данных, полученных в группе №1, была установлена высоко значимая ( $p < 0,001$ ) прямая умеренная связь между показателями ректальной температуры и концентрацией в крови свободного тироксина ( $r_s = 0,414$ ). Однако влияние тиреоидного гормона на термогенез не было постоянным. На третьи сутки после травмы связь между показателями ректальной температуры и концентрацией в крови свободного тироксина становится силь-

Таблица 1  
Динамика концентрации адреналина в крови лабораторных животных группы №1 и №2, Ме ( $P_{25}$ ;  $P_{75}$ )

Группы	Адреналин, нг/мл Ме ( $P_{25}$ – $P_{75}$ )			
	До операции	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Группа №2	22,7 (13,8–30,1)	23,6 (16,6–26,2)	13,3 (11,5–24,1)	21,3 (13,8–24,1)
Группа №3	28,4 (16,4–35,0)	32,1 (18,9–45,1)	12,1 (9,4–18,4)	27,6
$p$ между группами	0,329	0,34	0,458	

Таблица 2  
Динамика концентрации норадреналина в крови лабораторных животных группы №1 и №2, Ме ( $P_{25}$ ;  $P_{75}$ )

Группы	Норадреналин, нг/мл Ме ( $P_{25}$ – $P_{75}$ )			
	До операции	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Группа №2	72,4 (30,1–129,5)	73,3 (35,5–132,5)	73,3 (34,4–93,2)	37,0 (15,8–69,5)
Группа №3	55,4 (38,7–69,3)	63,6 (53,6–115,9)	60,7 (51,9–74,8)	48,4
$p$ между группами	0,512	0,837	0,821	

Таблица 3  
Динамика концентрации свободного тироксина в крови лабораторных животных группы №1 и №2, Ме ( $P_{25}$ ;  $P_{75}$ )

Группы	Свободный тироксин, пмоль/л			
	До операции	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Группа №2	5,9 (2,5–10,7)	4,2 (2,4–7,5)	4,3 (2,1–5,8)	2,1 (1,9–4)
Группа №3	6,5 (4,2–8,1)	4,6 (3,5–5,3)	2,5 (2,3–2,8)	3,0
$p$ между группами	0,958	0,654	0,123	

ной, о чём свидетельствует рост  $r_s$  до 0,833 ( $p < 0,001$ ). Также была установлена обратная умеренная связь между показателями ректальной температуры и концентрацией в крови лабораторных животных кортизола ( $r_s = 0,49$  при  $p < 0,001$ ). Изучение влияния катехоламинов на показатели, характеризующие активность метаболизма, не дали статистически значимых результатов. Все изученные нами гормоны обладают калоригенным эффектом. Следовательно, полученные данные позволяют сделать вывод о влиянии на формирование стратегии адаптации только для свободного тироксина, причём в послеоперационном периоде это влияние резко возрастало. Отрицательная связь между показателем кортизолемии и ректальной температуры свидетельствует о том, что выброс глюкокортикостероидов является лишь реакцией противодействия снижению активности метаболизма.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Назначение дексаметазона и адреналина кроликам породы Шиншилла в условиях множественной скелетной травмы обеспечивало стабильный повышенный уровень кортикостероидной активности, при этом подтвердить увеличение концентрации адреналина не удавалось уже через несколько часов после инъекции. Изучение связи концентрации гормонов в крови и активности метаболизма у

кроликов в условиях множественной скелетной травмы позволило установить важную роль в формировании адаптации эндокринной активности щитовидной железы.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Барабаш А.П., Гордиенко В.П., Барабаш Ю.А. Посттравматические системные реакции организма при переломах длинных костей. — Иркутск: РИГ ИТО НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН, 2000. — 129 с.
2. Бочаров С.Н., Кулинский В.И., Виноградов В.Г., Лебедь М.Л. и др. Изменения активности метаболизма и гормонального профиля после множественной скелетной травмы в эксперименте // Сибирский медицинский журнал — 2011. — № 2. — С. 90—93.
3. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения кортизола в сыворотке крови (ИФА-кортизол). — Режим доступа: <http://www.immunotek.ru/product/inr/gkn/KORTins.htm>.
4. Описание лекарственных средств: адреналин. — Режим доступа: [http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/adrenaline\\_\\_13174.htm](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/adrenaline__13174.htm).
5. Фундаментальная и клиническая физиология: Учеб. пособ. / Под ред. А.Г. Камкина, А.А. Каменского. — 2004. — 1073 с.
6. Харкевич Д.А. Фармакология: учебник для вузов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 736 с.

### Сведения об авторах

**Лебедь Максим Леонидович** — кандидат медицинских наук, врач-анестезиолог отделения анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-58; e-mail: [scrrs.irk@gmail.com](mailto:scrrs.irk@gmail.com))

**Кирпиченко Михаил Геннадьевич** — врач-анестезиолог отделения анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии»

**Бочаров Сергей Николаевич** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии»

**Гуманенко Виталий Викторович** — ассистент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ с курсом нейрохирургии ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

**Родионова Любовь Викторовна** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии»