

## ВПЛИВ РЕКОМБІНАНТНОЇ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПЕРИТОНІТІ

*Введення білим нелінійним щурам-самцям препарату супероксиддисмутази – рексоду (СОДрес) (0,05 мг/кг маси тіла, внутрішньочеревно, за 30 хв до та через 12, 24 і 36 год після моделювання гострого перитоніту) сприяло зменшенню вмісту продуктів ліпопероксидації, активації систем антиоксидантного захисту й енергозабезпечення мітохондрій, зниження рівня показників ендогенної інтоксикації і прозапальних цитокінів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гострий перитоніт, печінка, нирки, рексод.

**ВСТУП.** Гострий перитоніт посідає одне з провідних місць у структурі захворюваності в абдомінальній хірургії з високими показниками летальності. Згідно з останніми літературними даними [3], причиною смерті у 42–75 % випадків стають порушення функціонування внутрішніх органів, спричинені ендогенною інтоксикацією. Важливим патогенетичним моментом розвитку останньої при гострому перитоніті є гіперпродукування активних форм кисню (АФК): супероксидного аніон-радикала, перекису водню, гідроксильного радикала і синглетного кисню, які за фізіологічних умов знешкоджуються компонентами антирадикальної системи. Якщо потужність останньої є недостатньою, відбуваються активація перекисного окиснення мембранних ліпідів, пошкодження клітин організму з розвитком ендотоксикозу та виникненням поліорганної недостатності [10, 14, 15]. Тому патогенетично обґрунтованим є використання при цій патології агентів, які здатні знизити активність вільнорадикальних реакцій та попередити процеси надмірної ліпопероксидації. Одним з таких засобів є компонент природної антирадикальної системи – препарат рекомбінантної супероксиддисмутази (СОД), який може активно нейтралізувати супероксидний аніон-радикал.

Метою даного дослідження було вивчити вплив препарату супероксиддисмутази – рексоду (СОДрес) при його лікувально-профілактичному введенні на стан печінки та нирок

на різних стадіях гострого експериментального перитоніту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на нелінійних білих щурах-самцях масою 140–200 г, яких утримували на стандартних температурному, світловому і харчовому режимах виварію. Піддослідних тварин поділили на такі групи: 1-ша – контроль; 2-га, 3-тя і 4-та – тварини, в яких моделювали гострий перитоніт (ГП); 5-та, 6-та і 7-ма – щури, яким на тлі ГП внутрішньочеревно вводили рексод. ГП моделювали шляхом внутрішньочеревного введення 5 % калової суміші [17]. Препарат супероксиддисмутази – рексод (0,05 мг/кг маси тіла) [4] вводили щурам внутрішньочеревно на фоні ГП: у 5-й групі – за 30 хв до калової ін'єкції, у 6-й – за 30 хв до і через 12 год після моделювання патології, у 7-й – за 30 хв до і через 12, 24 та 36 год після моделювання перитоніту. Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом. Біохімічні показники досліджували у контрольних та дослідних групах щурів через 12, 24 і 48 год після моделювання ГП. Після виведення тварин з досліду визначали у гомогенатах печінки та нирок вміст гідроперексидів ліпідів (ГПЛ) [2], ТБК-активних продуктів (ТБП) [1], відновленого глутатіону (ВГ) [18], активність супероксиддисмутази (СОД) [16], каталази (КТ) [9], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5], цитохромоксидази (ЦХО) [6]. У сироватці крові визначали рівень сечовини (за стандартним набором ООО НПП “Филисит діагностика”, Україна) та молекул середньої маси (МСМ,

MCM<sub>2</sub>) [13]; IL-6 – за тест-системою ІФА (ТОВ “Укрмедсервіс”); TNF-α – за тест-системою ІФА (ТОВ “Укрмед Дон”). Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Стюдента, за допомогою програми “Excel”.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що у щурів з ГП зростав вміст продуктів ПОЛ – ГПЛ у печінці та нирках: через 12 год – на 36 і 31 %, 24 год – на 69 і 57 %, 48 год – на 79 і 73 %; ТБП у печінці й нирках: через 12 год – на 44 і 41 %, 24 год – на 68 і 63 %, 48 год – на 90 і 83 % (табл. 1). Спостерігалось зниження активності ферментів АОЗ: зменшення активності СОД у печінці та нирках через 12 год на 45 і 41 %, 24 год – на 57 і 54 %, 48 год – на 65 і 56 %; КТ у печінці й нирках на 20 і 17 % (12 год), 26 і 21 % (24 год), 46 і 36 % (48 год); виснаження пулу відновленого глутатіону (ВГ) у гомогенатах печінки та нирок на 32 і 24 % (12 год), 37 і 33 % (24 год) та 48 і 44 % відповідно до термінів експерименту. Виявлено зниження активності мітохондріальних ферментів через

12, 24 і 48 год експерименту порівняно з контрольними тваринами (табл. 1): СДГ – на 18, 31, 51 % (печінка) і 14, 29, 38 % (нирки); ЦХО – на 15, 27, 35 % (печінка) і 12, 23, 27 % (нирки). Відмічено зростання вмісту сечовини у сироватці тварин (на 20, 38 і 39 %) та молекул середньої маси (MCM<sub>1</sub> – на 39, 63 і 80 % та MCM<sub>2</sub> – на 32, 56 і 72 %) відповідно до термінів експерименту (табл. 2). Рівень IL-6 підвищувався у сироватці крові на 699 %, а TNF-α – на 2785 % через 48 год експерименту (табл. 3).

У групі тварин, яким з лікувально-профілактичною метою вводили рексод, спостерігалось пригнічення активності процесів перекиснення ліпідів. Так, через 12, 24 і 48 год перитоніту в гомогенатах печінки та нирок відмічали зниження вмісту ГПЛ – на 23, 32 і 40 % (печінка) та 13, 28 і 36 % (нирки), ТБП – на 21, 30 і 35 % (печінка) та 15, 26 і 33 % (нирки) (табл. 1). Одночасно зростала активність СОД – на 53, 96 і 110 % (печінка) та 51, 88 і 97 % (нирки), КТ – на 22, 30, 73 % (печінка) та 16, 23, 70 % (нирки) відповідно до термінів перитоніту. Спостерігалось збільшення вмісту ВГ

Таблиця 1 – Показники стану печінки та нирок щурів при гострому експериментальному перитоніті та призначенні СОДрес (M±m)

Показник	Група тварин							
	Орган	Контроль, n=6	12 год		24 год		48 год	
			КП, n=6	КП+СОДрес, n=6	КП, n=6	КП+СОДрес, n=6	КП, n=8	КП+СОДрес, n=8
ГПЛ, 10 <sup>3</sup> ум. од./кг	П	5,70±0,09	7,73±0,29*	5,97±0,22**	9,63±0,65*	6,58±0,28**	10,18±0,87*	6,15±0,11**
	Н	4,85±0,17	6,35±0,19*	5,53±0,20**	7,63±0,23*	5,47±0,16**	8,41±0,08*	5,35±0,10**
ТБП, ммоль/кг	П	4,66±0,23	6,72±0,16*	5,30±0,21**	7,81±0,11*	5,43±0,14**	8,87±0,21*	5,79±0,22**
	Н	4,54±0,15	6,38±0,19*	5,41±0,19**	7,38±0,22*	5,48±0,32**	8,31±0,31*	5,61±0,08**
КТ, кат/кг	П	8,05±0,05	6,48±0,11*	7,93±0,06**	5,92±0,14*	7,69±0,08**	4,38±0,11*	7,59±0,09**
	Н	6,75±0,08	5,63±0,25*	6,51±0,06**	5,34±0,17*	6,55±0,04**	4,29±0,13*	7,28±0,09**
СОД, ум. од./кг	П	2,74±0,06	1,52±0,08*	2,32±0,10**	1,17±0,08*	2,29±0,17**	0,96±0,04*	2,02±0,07**
	Н	2,10±0,05	1,24±0,08*	1,87±0,06**	0,98±0,06*	1,83±0,06**	0,93±0,05*	1,84±0,04**
ВГ, ммоль/кг	П	4,82±0,04	3,28±0,14*	4,44±0,09**	3,04±0,08*	4,30±0,13**	2,49±0,19*	3,90±0,22**
	Н	4,68±0,05	3,57±0,09*	4,49±0,05**	3,13±0,12*	4,23±0,14**	2,62±0,19*	3,96±0,17**
ЦХО, ммоль/(кг·хв)	П	7,98±0,11	6,76±0,09*	7,47±0,11**	5,86±0,08*	7,83±0,10**	5,21±0,26*	7,43±0,18**
	Н	7,73±0,27	6,81±0,15*	7,32±0,10**	5,98±0,29*	7,15±0,11**	5,67±0,25*	6,90±0,07**
СДГ, ммоль/(кг·хв)	П	5,75±0,05	4,74±0,04*	5,52±0,03**	3,95±0,02*	5,43±0,02**	2,80±0,02*	4,61±0,03**
	Н	4,78±0,05	4,13±0,04*	4,60±0,02**	3,37±0,03*	4,53±0,01**	2,98±0,06*	4,37±0,05**

Примітка. Тут і в наступних таблицях різниця достовірна: \* – відносно контролю; \*\* – відносно ГП.

у печінці та нирках – на 35, 41, 56 % (печінка) і 26, 35, 51 % (нирки). Відзначено зростання активності СДГ – на 16, 38, 64 % (печінка) і 11, 35, 47 % (нирки); ЦХО – на 11, 33, 43 % (печінка) і 8, 20, 22 % (нирки) через 12, 24 та 48 год експерименту (табл. 1). На фоні введення препарату супероксиддисмутази спостерігались достовірне зменшення вмісту сечовини у сироватці крові на 7, 16 % і зростання на 9 % та зниження МСМ<sub>1</sub> на 22, 36, 41 % і МСМ<sub>2</sub> на 16, 30, 34 % відповідно до термінів ГП (табл. 2). У сироватці крові відмічено достовірне зниження рівня IL-6 на 45 % і TNF-α на 23 % (48 год). Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, які підтверджують, що у розвитку даної патології задіяні численні патогенетичні механізми, які супроводжуються активацією процесів ПОЛ та зниженням активності системи АОЗ, що, у свою чергу, призводять до розвитку уражень внутрішніх органів [12, 14]. TNF-α, IL-6 є важливими медіаторами у виникненні системної запальної відповіді при дії пошкоджувальних факторів, що в результаті й зумовлює розвиток поліорганної недостатності [7, 11]. Дослідження, проведені на щурах із гострим перитонітом, показали достовірне підвищення рівня прозапальних цитокінів (TNF-α і IL-6) у сироватці крові, що свідчить про наявність запалення у піддослідних тварин і відображає активність запального процесу. Рексод при лікувально-профілактичному введенні зменшував рівень цитокінів TNF-α і IL-6 у сироватці крові щурів, що можна розглядати як його можливу здатність пригнічувати процеси запалення. Отже, надмірне і неконтрольоване продукування прозапальних цитокінів можна вважати однією з причин розвитку поліорганної недостатності у тварин із

ГП. Значне підвищення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів з ГП можна розцінювати як специфічний прояв патології внутрішніх органів [8].

СОДрес при його лікувально-профілактичному введенні зменшує ступінь ураження внутрішніх органів піддослідних тварин із ГП, проявляє цитопротекторну дію на печінку та нирки тварин, забезпечує регуляцію інтенсивності вільнорадикального окиснення, спрямовану на стабілізацію мембранних структур клітини. Таким чином, препарат рекомбінантної супероксиддисмутази при ГП знижує рівень супероксидного аніон-радикала, що є важливим механізмом захисту від АФК, зменшує вираження і тривалість ендотоксикозу та ступінь пошкодження внутрішніх органів.

**ВИСНОВКИ.** 1. У різні терміни розвитку гострого експериментального перитоніту (12, 24, 48 год) у печінці та нирках відбуваються активація процесів переокиснення мембранних ліпідів, зниження активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи, пригнічення енергозабезпечувальних процесів мітохондрій на тлі зростання показників ендогенної інтоксикації.

2. На 48 годині розвитку гострого експериментального перитоніту відмічають найбільш суттєві зміни показників систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів, маркерів ендогенної інтоксикації, що супроводжуються різким зростанням у сироватці крові рівня прозапальних цитокінів – TNF-α і IL-6.

3. При лікувально-профілактичному введенні рексоду в усі терміни розвитку гострого перитоніту відбуваються зменшення вмісту про-

Таблиця 2 – Вміст сечовини, молекул середньої маси у сироватці крові щурів при гострому експериментальному перитоніті та введенні СОДрес (M±m)

Показник	Група тварин						
	Контроль, n=6	12 год		24 год		48 год	
		КП, n=6	КП+СОДрес, n=6	КП, n=6	КП+СОДрес, n=6	КП, n=8	КП+СОДрес, n=8
Сечовина, ммоль/л	6,12±0,09	7,33±0,10*	6,80±0,12**	8,43±0,17*	7,08±0,14**	8,52±0,18*	9,25±0,13**
МСМ <sub>1</sub> , ум. од.	0,54±0,01	0,75±0,04*	0,58±0,01**	0,88±0,02*	0,56±0,02**	0,97±0,02*	0,57±0,01**
МСМ <sub>2</sub> , ум. од.	0,29±0,01	0,39±0,02*	0,33±0,02**	0,46±0,03*	0,32±0,01**	0,51±0,02*	0,33±0,01**

Таблиця 3 – Вміст цитокінів у сироватці крові при гострому експериментальному перитоніті та введенні СОДрес (M±m, n=6)

Показник	Група тварин		
	Інтактні (контроль)	КП (ГП 48 год)	КП (ГП 48 год)+СОДрес
IL-6, пг/мл	9,78±0,85	78,17±1,62*	42,68±2,62**
TNF-α, пг/мл	8,38±0,22	241,87±2,33*	187,03±1,40**

дуктів ліпопероксидації, активація систем антиоксидантного захисту та компонентів мітохондріального електронного транспорту в печінці та нирках, зниження рівня показників ендогенної інтоксикації. Під впливом рексоду спостерігається деяке зниження рівня TNF- $\alpha$  і IL-6 у сироватці крові тварин з гострим перитонітом.

4. Отримані результати є підґрунтям для подальшого поглибленого вивчення властивостей препарату рекомбінантної супероксиддисмутази як засобу, що здатен зменшити ступінь ураження внутрішніх органів при гострому перитоніті.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
3. Гаджиев Н. Дж. Клинико-лабораторная оценка эффективности системной и местной озонотерапии в комплексном лечении острого распространенного перитонита / Н. Дж. Гаджиев, М. Н. Тарвердиев // Харківська хірур. школа. – 2008. – **31**, № 4. – С. 15-18.
4. Деримедвідь Л. В. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів супероксиддисмутази при патологічних станах, обумовлених активацією процесів вільнорадикального окислення : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / Л. В. Деримедвідь. – К., 2006. – 36 с.
5. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–212.
6. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
7. Критерії цитокинового статусу при комбінованій терапії експериментального стрептококового сепсису / А. Я. Циганенко, А. Ф. Яковцова, М. М. Мішина [та ін.] // Врач. практика. – 2006. – № 6. – С. 97–100.
8. Лазарев С. М. Роль цитокинов в развитии и лечении перитонита / С. М. Лазарев, Х. А. Гамзатов // Вест. хирургии. – 2008. – **167**, № 5. – С. 109–113.
9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Роль активации перекисного окисления липидов в патогенезе экспериментального перитонита / С. Г. Конюхова, А. Ю. Дубикайтис, Л. В. Шабунович [и др.] // Бюл. exper. биол. и мед. – 1989. – № 5. – С. 557–559.
11. Роль цитокинового звена в воспалительном процессе / Т. Бухтиарова, З. Омеляненко, В. Хоменко [и др.] // Вісн. фармакології та фармації. – 2008. – № 9. – С. 22–27.
12. Соломаха А. А. Современные теоретические аспекты эндогенной интоксикации / А. А. Соломаха // Вестн. нов. мед. техн. – 2006. – **13**, № 4. – С. 21.
13. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах / В. В. Оськина, К. И. Чекалина, Н. И. Габриэлян [та ін.] // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23–25.
14. Сучасні аспекти патогенезу, діагностики, хірургічного лікування перитоніту / Ю. Б. Куцик, В. П. Федоренко, Ю. І. Шаваров [та ін.] // Укр. журн. хірургії. – 2009. – № 4. – С. 92–97.
15. Тараканов А. В. Динамика перекисного окисления липидов у больных гнойным перитонитом аппендикулярного происхождения / А. В. Тараканов, С. Х. Луспикаян // Вопр. биол., мед. и фарм. химии. – 2008. – № 4. – С. 32–36.
16. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–684.
17. Effect of aminoguanidine on plasma nitric oxide by-product blood flow during chronic peritoneal sepsis / K. J. Alden, S. J. Motew, A. C. Sharma [et al.] // Shock. – 1998. – **9**, № 4. – P. 289–295.
18. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.

## **ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗВЕНЬЯ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ**

### **Резюме**

Введение белым нелинейным крысам-самцам препарата супероксиддисмутазы – рексода (0,05 мг/кг массы тела, внутривбрюшно, за 30 мин до и через 12, 24 и 36 часов после моделирования острого перитонита) способствовало уменьшению содержания продуктов липопероксидации, активации систем антиоксидантной защиты и энергообеспечения митохондрий, снижению уровня показателей эндогенной интоксикации и провоспалительных цитокинов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **острый перитонит, печень, почки, рексод.**

**V. V. Chernyashova**

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## **INFLUENCE OF SUPEROXYDE DISMUTASE ON PATHOGENETIC LINKS LIVER AND KIDNEY LESION AT ACUTE EXPERIMENTAL PERITONITIS**

### **Summary**

The present investigation was undertaken to study the effect of the recombinant superoxide dismutase (CODrec) on liver and kidneys status in different stages of acute peritonitis. Experimental peritonitis was produced by inoculating 5 % of faecal suspension into the peritoneal cavity. The first dose of CODrec (0,05 mg/kg of the body mass intrabdominally) was given 30 minutes before and 12 h, 24 h, 36 h after faecal inoculation. For biochemical studies, separate groups of animals were used at 12 h, 24 h, 48 h after the modeling of the acute peritonitis. Untreated rats with peritonitis had significantly increase of the lipoperoxydation product contents, lower mitochondrial enzymes levels and lower antioxidant activity than that of the control animals. The administration of CODrec produced positive effects on animal liver and kidneys. There was a significant decrease of the lipoperoxydation product contents, the activation of the system of antioxidant protection and mitochondrial energy supply; the reduction of the level of the indices of the endogenous intoxication and proinflammatory cytokines.

KEY WORDS: **acute peritonitis, liver, kidney, superoxide dismutase.**

Отримано 06.10.11

**Адреса для листування:** В. В. Черняшова, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.