

## Коррекция препаратом кордовой крови "Криоцелл-Гемокорд" метаболических нарушений при остром гнойном перитоните

UDC 615.361.013.68.014.41:616.346.2-002.3

K.A. GOLTSEV, S.YE. OVSYANNIKOV, O.YU. KOZHINA, M.V. OSTANKOV, A.N. GOLTSEV\*

## Correction of Metabolic Impairments with "Cryocell-Hemocord" Cord Blood Preparation During Acute Purulent Peritonitis

Апробирован способ коррекции нарушений метаболизма препаратом кордовой крови "Криоцелл-Гемокорд" в экспериментальной модели у крыс с острым гнойным перитонитом. Показано, что применение его с антибиотиком в комплексном лечении данной патологии способствовало коррекции нарушений свободнорадикального окисления, уменьшению степени гипоксии, улучшению утилизации кислорода тканями, пережившими гипоксию, восстановлению систем антиоксидантной защиты.

**Ключевые слова:** препарат "Криоцелл-Гемокорд", острый гнойный перитонит, коррекция метаболических нарушений, гипоксия.

Апробовано спосіб корекції порушень метаболізму препаратом кордової крові "Кріоцелл-Гемокорд" в експериментальній моделі у щурів з гострим гнійним перитонітом. Показано, що використання його з антибіотиком у комплексному лікуванні даної патології сприяло корекції порушень вільнорадикального окислення, зменшенню ступеня гіпоксії, поліпшенню утилізації кисню тканинами, які пережили гіпоксію, відновленню систем антиоксидантного захисту.

**Ключові слова:** препарат "Кріоцелл-Гемокорд", гострий гнійний перитоніт, корекція метаболічних порушень, гіпоксія.

The method of correction of metabolic impairments with "Cryocell-Hemocord" cord blood preparation in experimental model in rats with an acute purulent peritonitis was tested. It has been shown that its application with antibiotics as a combined treatment of this pathology contributed to the correction of impairments of free radical oxidation, lessening of hypoxia rate, improvement of oxygen utilization by the tissues, survived hypoxia, recovery of antioxidant protection systems.

**Key words:** "Cryocell-hemocord" preparation, acute purulent peritonitis, correction of metabolic impairments, hypoxia .

Сложные морфофункциональные изменения, возникающие в отдельных органах и системах, затрудняют лечение перитонита [5, 9, 10, 21, 26]. Одним из важных факторов нарушений метаболизма является развитие гипоксии [6, 15], которая приводит к срыву функционирования системы митохондриального окислительного фосфорилирования, что обусловлено уменьшением доставки кислорода к тканям и/или ингибированием окислительных ферментов [2, 5, 16]. При перитоните нарушается связь между транспортом кислорода, гемодинамикой и метаболизмом [21]. Развивается "порочный круг" или "синдром взаимного отягощения", характеризующийся развитием тканевой гипоксии, в результате которой появляются патоморфологические изменения в органах [8, 11]. К наиболее тяжелым клиническим проявлениям развития острого разлитого перитонита (ОГП) относится формирование вторичной гипоксии тканей – следствие перфузионных нарушений со снижением потребления тканями кислорода [25]. Повреждение клеток эндотелия приводит к снижению

Complicated morphofunctional changes appearing in some organs and systems of an organism, make difficult the peritonitis treatment [[5, 9, 10, 21, 26]. One of important factors of metabolism disorders is development of hypoxia [6, 15] leading to the failure in the functioning of the system of mitochondrial oxidative phosphorylation, due to the decreased oxygen delivery to tissues and/or inhibiting of oxidative enzymes [2, 5, 16]. During peritonitis the relation between the transport of oxygen, hemodynamics and metabolism is impaired [21]. As a result the "vicious circle" or "mutual burdening syndrome" is developed, characterized by tissue hypoxia, resulting in pathomorphological changes in organs [8, 11]. The most severe clinical manifestations of an acute purulent peritonitis (APP) is the formation of secondary hypoxia of tissues, resulted from perfusion impairments with a reduced consumption of oxygen by the tissues [25]. The damage of endothelium cells results in the decrease of oxygen extraction due to elevated permeability of vessel walls, as well as in the strengthening of plasma flow into interstitial space, resulting in the disorder of gas exchange between the

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-57-89, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта:  
cryopato@rambler.ru

\* To whom correspondence should be addressed: 23,  
Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373  
5789, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryopato@rambler.ru

экстракции кислорода за счет увеличения проницаемости сосудистой стенки и усиления тока плазмы в интерстициальное пространство, приводящее к нарушениям газообмена между клетками различных органов и кровью. Именно гипоксия является важным “пусковым моментом” различных нарушений обмена веществ, проявляющихся на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях [1]. Уменьшение концентрации АТФ в клетке обуславливает ослабление ее влияния на ключевой фермент гликолиза фосфофруктокиназу. Активирующийся в результате анаэробный гликолиз частично компенсирует недостаток АТФ, однако быстро вызывает накопление лактата, развитие ацидоза и прогрессирующее собственное ингибирование [20]. Гипоксические нарушения в слизистой оболочке кишечника, нарушения энергетических и свободнорадикальных процессов способствуют дестабилизации мембран энтероцитов и проникновению микроорганизмов и их токсинов из просвета кишечника в кровеносное русло [4, 6].

Следовательно, гипоксия является основным фактором формирования необратимых поражений, при которых расстройства физиологических функций и нарушения деятельности отдельных систем не могут спонтанно корригироваться путем саморегуляции и требуют частичной или полной коррекции и замещения функций [18].

При отсутствии адекватной и целенаправленной коррекции данной патологии гипоксия приводит к развитию синдрома полиорганной недостаточности, в частности сердечно-сосудистой и дыхательной [18]. Поэтому коррекция нарушений метаболизма и системы гомеостаза имеет важное значение в клинической практике [6, 7, 15, 21]. Очевидна необходимость совершенствования новых подходов в терапии ОГП, которые направлены на коррекцию механизмов патогенеза основных расстройств – гипоксии и её последствий.

Современные методы терапии ОГП имеют этиологическую направленность [3], сконцентрированную на коррекции нарушений системного и тканевого уровней с помощью антибактериальных и иммуностропных лекарственных препаратов, инфузионно-трансфузионной и симптоматической терапии, а также метаболических препаратов, повышающих эффективность терапии за счёт воздействия на клеточный метаболизм, лимитирующий энергетическое обеспечение витальных функций жизненно важных органов. Расширение спектра патогенетических факторов развития ОГП определяет необходимость внесения корректив в методы лечения данной патологии, что по-прежнему актуально.

Цель работы – обоснование целесообразности применения препарата кордовой крови “Криоцелл-

cells of organs and blood. Namely hypoxia is the main "triggering moment" of different metabolic impairments, manifested at cellular, subcellular and molecular levels [1]. The reduction of ATP concentration in a cell stipulates the diminishing of its effect on a key enzyme of glycolysis, phosphofructokinase. As a consequence, activated anaerobic glycolysis partially compensates the lack of ATP, however, it rapidly causes the accumulation of lactate, development of acidosis and progressing own inhibition [20]. Hypoxic changes in intestinal mucous, impairments of energetic and free radical processes contribute to destabilization of membranes of enterocytes and penetration of microorganisms and their toxins from intestinal lumen into blood channel [4, 6].

Therefore, the hypoxia is the basic factor of the formation of irreversible damages at which the disorders of physiological functions and impairments of the activity of certain systems can not be spontaneously corrected by self-regulation and demand partial or complete correction and substitution of the functions [18].

If adequate and targeted correction of this pathology is absent, the hypoxia leads to the development of the syndrome of polyorgan insufficiency, in particular cardiovascular and respiratory ones [18]. So, the correction of metabolic disorders and homeostasis system is of great practical importance in clinics [6, 7, 15, 21]. The need in improvement of new approaches in APP therapy, directed to the correction of pathogenesis mechanisms of main disorders, *i.e.* hypoxia and its consequences, is obvious.

Modern methods of APP therapy are of etiological orientation [3], focused to the correction of the impairments of system and tissue levels by means of antibacterial and immune tropic medicines, as well as metabolic preparations, increasing the efficiency of therapy due to the effect on cell metabolism, limiting energetic provision of vital functions of the organs. The widening of the spectrum of APP development pathogenetic factors determines the making corrections to the treatment of this pathology, which is still an actual one.

The research aim is to stipulate the expediency of applying the "Cryocell-Hemocord" cord blood preparation in a combined treatment of APP with basing on the assessment of the development of lipid peroxidation (LPO) reactions and state of the parameters of glutathione-dependent antioxidant system.

### Materials and methods

The experiments were performed in 6-month-old Wistar rats of 160–180 g in accordance with the rules of European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1985) adopted by Ukrainian National Congress on Bioethics (Kiev, 2003) [12].

APP was modelled by ligation and dissecting of vermiform appendix, leaving it in abdominal cavity [19]. The sur-

Гемокорд” в комплексном лечении ОГП на основании оценки развития реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния показателей глутатион-зависимой антиоксидантной системы.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на 6-месячных крысах линии Вистар массой 160–180 г в соответствии с правилами “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985), одобренными Национальным конгрессом Украины по биоэтике (Киев, 2003) [12].

Моделировали ОГП путем перевязки и отсечения червеобразного отростка, оставляя его в брюшной полости [19]. Оперировали крыс под общим тиопенталовым наркозом. Препарат “Криоцелл-Гемокорд” получали из цельной кордовой крови человека в виде лейкоконцентрата в собственной плазме путём пассивной седиментации эритроцитов в градиенте плотности с добавлением полиглюкина. Криоконсервирование осуществляли на программном замораживателе УОП-6 (СКТБ с ОП ИПКиК НАН Украины) без добавления традиционного криопротектора по двухэтапной программе, разработанной и запатентованной в ИПКиК НАН Украины [23]. Размораживание осуществляли на водяной бане при температуре 40–41°C [7].

Все крысы были разделены на 4 группы: 1-я – интактные (контроль); 2-я – крысы с ОГП, которым проводили релапаротомию и санацию брюшной полости раствором фурацилина; 3-я – крысы с ОГП, которым проводили релапаротомию и внутримышечную инъекцию ампицилина в дозе 40 мг/кг массы тела; 4-я – крысы с ОГП, которым проводили релапаротомию и одновременно с инъекцией ампицилина внутривенно вводили препарат “Криоцелл-Гемокорд” в объеме 0,3 мл ( $5-6 \times 10^6$  клеток).

Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. Биохимические показатели и тяжесть состояния животных по шкале Глазго [24] оценивали на 1, 3, 5-е сутки после релапаротомии. Уровень ПОЛ оценивали в эритроцитах крыс по содержанию малонового диальдегида (МДА) [4], концентрации восстановленного глутатиона (ВГ) по методу [17], активности глутатион-пероксидазы (ГП) по методу [25] и каталазы [13]. В гомогенатах печени определяли содержание гидроперекисей липидов (ГПЛ), активность ГП и глутатион-редуктазы (ГР) – методом [20]. Содержание белка определяли методом Лоури.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили непараметрическими методами с помощью программы “Биостат”.

urgery of rats was done with general thiopental narcosis. "Cryocell-Hemocord" preparation was derived from human whole blood as leukoconcentrate in own plasma by means of passive sedimentation of erythrocytes in density gradient with adding polyglucinum. Cryopreservation was carried-out with programmable freezer UOP-6 (Special Design and Technical Bureau of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine) according to two-step program designed and patented at the of IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine [23], thawing was done in water bath at 40–41°C [7].

All the rats were divided into 4 groups: the first one was intact (control); the 2<sup>nd</sup> one was the rats with APP subjected to relaparotomy and sanation of abdominal cavity with furacilin solution; the 3<sup>rd</sup> one comprised the rats with APP, subjected to relaparotomy and intramuscular injection of ampicillin in a dose of 40 mg/kg of body mass; the 4<sup>th</sup> comprised the rats with APP subjected to relaparotomy simultaneously with injection of ampicillin and intravenous injection of "Cryocell-Hemocord" preparation in the volume of 0.3 ml ( $5-6 \times 10^6$  cells).

The animals sacrificed by decapitation under light ether narcosis. Biochemical indices and severity of the state of animals (according Glasgow scale [24]) were estimated to the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> day following relaparotomy. LPO rate was assessed in erythrocytes of rat blood as the content of malone dialdehyde (MDA) [4], concentration of reduced glutathione (RG) was assessed by the method of Putilina [17], activity of glutathione-peroxidase (GP) by the method of Steffers *et al.* [25], and catalase – according Korolyuk [13]. Liver homogenates were examined for the content of lipid hydroperoxides (LHP), activity of GP and glutathione reductase (GR) by the method of Chernov [20]. The protein content was studied by Lowry method.

Experimental data were statistically processed by non-parametric methods using Biostat software.

### Results and discussion

It has been established that in rats of all the groups there were observed the deviations of indices of oxygen-transport systems and free radical disorders. Nevertheless, judging on the assessed parameters, the severity of the state of animals in the groups varied. So, in the animals of the group 2 during 24 hrs after relaparotomy this index made  $13.4 \pm 4.3$ ,  $12.8 \pm 2.2$  for the group 3 and  $12.2 \pm 2.2$  points for the group 4.

The experimental results (Table 1) show that on APP background in rat blood cells there is a failure of pro-oxidant – anti-oxidant balance even at initial stage of pathology development. In the rats of group 2 these phenomena are getting growing for the whole observation period up to 5 days. The established accumula-

## Результаты и обсуждение

Установлено, что у крыс всех групп с ОГП наблюдали отклонения показателей кислородо-транспортных систем и свободнорадикальных нарушений. Тем не менее, судя по оцененным показателям, тяжесть состояния животных в группах была различной. Так, у животных 2-й группы в 1-е сутки после релапаротомии этот показатель составлял  $13,4 \pm 4,3$  балла, в 3-й группе –  $12,8 \pm 2,2$  и в 4-й группе –  $12,2 \pm 2,2$  балла.

Результаты экспериментов (табл. 1), показывают, что на фоне ОГП в эритроцитах крови крыс происходит срыв прооксидантно-антиоксидантного равновесия уже на начальном этапе развития патологии. У крыс 2-й группы эти явления продолжают нарастать в течение всего периода наблюдения вплоть до 5-х суток. Установленное накопление продуктов липоперекисления может свидетельствовать как об истощении системы антиоксидантной защиты (табл. 1), так и о мобилизации иммунной системы организма за счет реализации сигнальной функции гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот [14].

Терапия как антибиотиком (3-я группа), так и совместно с “Криоцелл-Гемокордом” (4-я группа) приводила к снижению накопления МДА почти на 20%. Более высокая эффективность комплексной терапии ОГП антибиотиком в сочетании с препаратом “Криоцелл-Гемокорд” даёт возможность предположить, что адекватное лечение изучаемой патологии возможно и без применения высоких доз антибиотиков, которые могут в настоящих условиях усиливать присутствующую токсическую компоненту, что относится к безусловно позитивным свойствам применения “Криоцелл-Гемокорда”.

Аналогичная картина наблюдалась и в гомогенатах печени экспериментальных животных (табл. 2). Полученные результаты коррелируют и с соматическим состоянием животных.

В группе животных, которых лечили препаратом “Криоцелл-Гемокорд”, отмечали более раннюю реабилитацию функции печени, что, вероятно, связано с отсутствием токсических свойств у данного препарата по сравнению с антибиотиком. Факт снижения содержа-

ния липоперекисных продуктов может свидетельствовать как об истощении системы антиоксидантной защиты (табл. 1) и мобилизации иммунной системы организма из-за реализации сигнальной функции гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот [14].

Терапия как антибиотиком (3-я группа) и в сочетании с препаратом “Криоцелл-Гемокорд” привела к снижению накопления МДА ал-

**Таблица 1.** Содержание МДА (нмоль/г Hb), ВГ (мг%) и активность антиоксидантных ферментов ГП (нмоль, НАДФн/г Hb/мин) и каталазы (у.е./г Hb/мин) в эритроцитах крыс с ОГП до и после лечения

**Table 1.** MDA content (nM/g Hb), RG (mg%), activity of antioxidant enzymes of GP (nM, NADPh/g Hb/min) and catalase (relative units/g Hb/min) in rat's erythrocytes with APP prior to and after treatment

Группа животных Group of animals	Показатель Index	Срок наблюдения, сутки Observation term, days		
		1	3	5
1 Контроль Control	МДА MDA	$6,42 \pm 0,24$	$6,42 \pm 0,24$	$6,42 \pm 0,24$
	ВГ RG	$3,86 \pm 2,30$	$3,86 \pm 2,30$	$3,86 \pm 2,30$
	ГП GP	$0,712 \pm 0,032$	$0,712 \pm 0,032$	$0,712 \pm 0,032$
	Каталаза Catalase	$49,26 \pm 2,81$	$49,26 \pm 2,81$	$49,26 \pm 2,81$
2 ОГП APP	МДА MDA	$12,67 \pm 1,4^{1,3,4}$	$13,2 \pm 1,6^{1,3,4}$	$13,5 \pm 0,8^{1,3,4}$
	ВГ RG	$2,644 \pm 0,247^1$	$2,270 \pm 0,211$	$2,009 \pm 0,212^{1,4}$
	ГП GP	$0,534 \pm 0,032^1$	$0,502 \pm 0,028^1$	$0,487 \pm 0,072^{1,3,4}$
	Каталаза Catalase	$30,62 \pm 3,7^1$	$29,05 \pm 2,57^{1,4}$	$28,47 \pm 2,48^{1,3,4}$
3 ОГП + антибиотик APP + antibiotics	МДА MDA	$9,68 \pm 1,10^{1,2}$	$9,51 \pm 0,7^{1,2}$	$9,23 \pm 1,1^{1,2}$
	ВГ RG	$2,844 \pm 0,231^1$	$2,852 \pm 0,221^1$	$2,862 \pm 0,257^1$
	ГП GP	$0,518 \pm 0,077^1$	$0,537 \pm 0,048^1$	$0,587 \pm 0,042^{1,2,4}$
	Каталаза Catalase	$31,07 \pm 3,78^1$	$33,61 \pm 3,51^1$	$38,31 \pm 3,47^{1,2}$
4 ОГП + антибиотик + "Криоцелл- Гемокорд" APP + antibiotics + "Cryocell- hemocord"	МДА MDA	$9,95 \pm 0,86^{1,2}$	$8,0 \pm 0,4^1$	$7,16 \pm 0,6^{2,3}$
	ВГ RG	$2,816 \pm 0,240^1$	$2,951 \pm 0,373^1$	$3,19 \pm 0,28^2$
	ГП GP	$0,525 \pm 0,054^1$	$0,595 \pm 0,028^1$	$0,681 \pm 0,063^{2,3}$
	Каталаза Catalase	$34,33 \pm 4,1^1$	$39,26 \pm 2,72^{1,2}$	$44,45 \pm 2,68^{2,3}$

**Примечание:** достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению: <sup>1</sup> – с 1-й группой (контроль), <sup>2</sup> – 2-й группой, <sup>3</sup> – 3-й группой, <sup>4</sup> – 4-й группой в соответствующие сроки.

**Notes:** statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) if compared with: <sup>1</sup> – group 1 (control); <sup>2</sup> – group 2; <sup>3</sup> – group 3; <sup>4</sup> – group 4 into corresponding terms.

ния МДА в тканях при включении в терапию "Криоцелл-Гемокорд" свидетельствует, кроме того, о наличии у препарата антиоксидантных свойств.

Если в остром периоде течения ОГП преимущества комплексной терапии антибиотиком с препаратом "Криоцелл-Гемокорд" перед применением только антибиотикотерапии выражены не явно, то в периоде ранней реабилитации они гораздо более очевидны. Как видно из данных, представленных в табл. 1 и 2, дополнительное применение препарата "Криоцелл-Гемокорд" в большей степени, чем антибиотик, снижает накопление продуктов ПОЛ, параллельно в большей степени увеличивая глутатион-зависимый антиоксидантный баланс в эритроцитах и клетках печени.

Следовательно, использование препарата "Криоцелл-Гемокорд" в комплексной терапии ОГП

most by 20%. Higher efficiency of combined therapy of APP with antibiotics and the "Cryocell-Hemocord" preparation allow to suppose that an adequate treatment of the studied pathology is possible even without application of high doses of antibiotics, which could aggravate the present toxic situation, and this is a undoubtedly positive feature of "Cryocell-Hemocord" application.

The similar results were observed also in liver homogenates of experimental animals (Table 2). The findings correlated with somatic indices of the animal's state too.

In the group of animals treated with "Cryocell-Hemocord" preparation an earlier rehabilitation of liver function was noted, that is likely associated with the absence of toxic properties in this preparation if compared with antibiotics. The fact of reduced MDA content in tissues when involving the

"Cryocell-Hemocord" preparation into the therapy testifies also to the existence of its anti-oxidant properties.

During an acute period of APP the advantages of "Cryocell-Hemocord" preparation vs. the therapy with antibiotics are not vividly expressed, but within early rehabilitation period they are more manifested. The data of Tables 1 and 2 show that the "Cryocell-Hemocord" preparation in a greater extent reduces the accumulation of LPO products comparing with antibiotics, as well as simultaneously increases the glutathione-dependent anti-oxidant balance in erythrocytes and liver cells.

Therefore the application of "Cryocell-Hemocord" preparation in a combined therapy of APP decreases the intensity of LPO processes. Possible causes of this positive effect are related to both recovery of the pool of water-soluble anti-oxidants (RG is one of the main representative of this group) and fat-soluble anti-oxidants in tissues of different organs and to the rise in activity of enzymes of anti-oxidant protection. The "Cryocell-Hemocord" preparation renders a positive effect on activity of enzymes of anti-radical protection.

Post-operative course of APP is characterized with the suppression of the activity of these en-

**Таблица 2.** Содержание ГПЛ (нмоль МДА /мг белка), ВГ (мг%) и активность антиоксидантных ферментов ГП (нмоль, НАДФН/ мг белка/ мин) и ГР (нмоль, НАДФН/ мг белка/мин) в гомогенатах печени крыс с ОГП до и после лечения

**Table 2.** Content of LHP (MDA nM/protein mg), RG (mg%), activity of anti-oxidant enzymes of GP (nM, NADPh/protein mg/min) and GR (nM, NADPh/protein mg/min) in rat's liver homogenates with APP prior to and after treatment

Группа животных Group of animals	Показатель Index	Срок наблюдения,сутки Observation term,days		
		1	3	5
1 Контроль Control	ГПЛ LHP	0,29 ± 0,07	0,29 ± 0,07	0,29 ± 0,07
	ГП GP	96,2 ± 13,7	96,2 ± 13,7	96,2 ± 13,7
	ГР GR	56,6 ± 2,8	56,6 ± 2,8	56,6 ± 2,8
2 ОГП APP	ГПЛ LHP	0,67 ± 0,04 <sup>1,3,4</sup>	0,72 ± 0,06 <sup>1,3,4</sup>	0,75 ± 0,8 <sup>1,3,4</sup>
	ГП GP	168,4 ± 11,4 <sup>1</sup>	79,0 ± 12,0 <sup>1</sup>	68,9 ± 13,21
	ГР GR	61,5 ± 2,1	37,8 ± 3,0 <sup>1</sup>	31,5 ± 2,7 <sup>1,3,4</sup>
3 ОГП + антибиотик APP + antibiotics	ГПЛ LHP	0,31 ± 0,02	0,27 ± 0,07	0,26 ± 0,02
	ГП GP	153,0 ± 25,0 <sup>1</sup>	80,8 ± 7,1	85,4 ± 9,2 <sup>2</sup>
	ГР GR	65,6 ± 7,4	40,9 ± 3,6 <sup>1</sup>	45,4 ± 5,6 <sup>2</sup>
4 ОГП + антибиотик + "Криоцелл- Гемокорд" APP + antibiotics + "Cryocell- hemocord"	ГПЛ LHP	0,25 ± 0,06	0,30 ± 0,04	0,26 ± 0,06
	ГП GP	152,6 ± 26,0 <sup>1</sup>	85,5 ± 8,5	90,9 ± 11,3
	ГР GR	32,7 ± 0,4 <sup>1,2,3</sup>	42,9 ± 4,2 <sup>1</sup>	53,2 ± 3,3 <sup>2</sup>

**Примечание:** достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению: <sup>1</sup> – с 1-й группой (контроль), <sup>2</sup> – 2-й группой, <sup>3</sup> – 3-й группой, <sup>4</sup> – 4-й группой в соответствующие сроки.

**Notes:** statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) if compared with: <sup>1</sup> – group 1 (control); <sup>2</sup> – group 2; <sup>3</sup> – group 3; <sup>4</sup> – group 4 into corresponding terms.

приводит к снижению интенсивности процессов ПОЛ. Возможные причины данного положительного эффекта связаны как с восстановлением пула водорастворимых антиоксидантов (ВГ является одним из основных представителей данной группы) и жирорастворимых антиоксидантов в тканях различных органов, так и с увеличением активности ферментов антиоксидантной защиты. Препарат "Криоцелл-Гемокорд" оказывает положительное влияние на активность ферментов антирадикальной защиты.

Послеоперационное течение ОГП характеризуется угнетением активности данных ферментов в клетках, что связано с развитием тяжелой гипоксии тканей и сопровождается усиленной работой активных форм кислорода, наибольшее значение среди которых имеет супероксидный радикал, способный инактивировать ГП и частично ингибировать каталазу [8, 14]. Полученные данные свидетельствуют о более выраженном и раннем угнетении активности ГП и каталазы в эритроцитах крыс при ОГП, а снижение активности ГР отмечается в более поздние сроки.

Применение препарата "Криоцелл-Гемокорд" в комплексной терапии с антибиотиком повышало активность ГП и каталазы на 5-е сутки и было более выраженной по сравнению с показателями у животных, не получавших препарата (табл. 2). Еще один механизм восстановления активности ГП связан с увеличением концентрации ВГ за счет повышения глутатион-редуктазной активности (табл. 2).

Таким образом, выявленные изменения свидетельствуют об антиоксидантном действии препарата "Криоцелл-Гемокорд" при его использовании в комплексной терапии ОГП. Данные эффекты заключаются в снижении интенсивности процессов перекисного окисления, повышении содержания основного антиоксиданта клетки – ВГ, повышении активности антиоксидантных ферментов – каталазы и ГП.

Наличие антигипоксантных и антиоксидантных свойств данного препарата в комплексной терапии ОГП позволяет снизить гипоксию тканей, которая усугубляет нарушения тканевого метаболизма.

## Выводы

1. Применение препарата "Криоцелл-Гемокорд" в комплексной терапии ОГП приводит к более быстрому восстановлению нарушений метаболизма в эритроцитах и клетках печени за счет уменьшения повреждений, вызванных интенсификацией продуктами свободнорадикального окисления липидов, уменьшения гипоксии и восстановления процессов утилизации кислорода тканями.

zymes in the cells that is related to the development of severe hypoxia of tissues and accompanied with intensive accumulation of reactive oxygen species, of the highest value among those is superoxide radical capable of inactivating GP and partially inhibiting catalase [8, 14]. The findings testify to more manifested and early suppression of GP and catalase activity in rat erythrocytes during APP, as well as the reduction of GR activity, found at later terms.

The application of "Cryocell-Hemocord" preparation in combined therapy with antibiotics increased the activity of GP and catalase in rats to the 5<sup>th</sup> day and was more manifested if compared with the indices in non-treated animals (Table 2). One more mechanisms of recovery of GP activity is related to the rise in concentration due to the increase of glutathione-reductase activity (Table 2).

Thus, the revealed changes testify to an antioxidant effect of "Cryocell-Hemocord" preparation when it is used for a combined therapy of APP. These effects consist in the reduction of the intensity of lipid peroxidation processes, rise in the content of main cell antioxidant, RG, and increased activity of antioxidant enzymes, catalase and GP.

The presence of anti-hypoxant and anti-oxidant properties of this preparation in a combined therapy of APP enables to reduce the tissue hypoxia which aggravates the tissue metabolism.

## Conclusions

1. Application of "Cryocell-Hemocord" preparation in a combined therapy of APP leads to more rapid cure of metabolism impairments in erythrocytes and liver cells due to lessening of damages caused by intensified LPO, as well as to minimization of hypoxia and restoration of oxygen utilization processes by the tissues.

2. "Cryocell-Hemocord" preparation recovers the activity of anti-oxidant defense system, reduces the activity of peroxidation processes, level of endotoxemia both in plasma and erythrocytes, restores the functional activity of liver, the organ providing the detoxication process in an organism.

## Литература

1. *Bagnenko S.F., Gorbachev N.B., Amagirov V.P. et al.* Pharmacological correction of metabolic impairments at acute purulent peritonitis: Methodical recommendations.– St-Petersburg, 2007.– 29 p.
2. *Bilenko M.V.* Ischemic and reperfusion impairments of organs. Molecular mechanisms, ways of preventing and treatment.– Moscow: Meditsyna, 1989.– 368 p.
3. *Bondarev R.V., Bondarev V.I.* Peculiarities of classification of acute purulent peritonitis// Ukr. Med. Almanakh.– 2004.– Vol. 7, N5.– P. 24–27.

2. Препарат “Криоцелл-Гемокорд” восстанавливает активность системы антиоксидантной защиты, снижает активность процессов перекисного окисления, уровень эндотоксемии как в плазменном, так и в эритроцитарном секторе, восстанавливает функциональную активность печени – органа, обеспечивающего процессы детоксикации в организме.

### Литература

1. Багненко С.Ф., Горбачев Н.Б., Амагыров В.П. и др. Фармакологическая коррекция метаболических нарушений при разлитом перитоните: Метод. рекомендации.– СПб.: 2007.– 29 с.
2. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения.– М.: Медицина, 1989.– 368 с.
3. Бондарев Р.В., Бондарев В.И. Особенности классификации острого разлитого перитонита. // Укр. мед. альманах.– 2004.– Т. 7, №5.– С. 24–27.
4. Владимиров Ю.А. Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембраны митохондрий, некроз и апоптоз // Биологические мембраны.– 2002.– Т. 19, №5.– С. 356–377.
5. Гельфанд Е.Б., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка тяжести состояния больных и полиорганной дисфункции // Анестезиология и реаниматология.– 2000.– №3.– С. 29–33.
6. Голиков П.П., Матвеев С.Б., Мычко-Мегрин В.В., Марченко В.В. Регуляция кислородного обмена у больных перитонитом в остром периоде // Анестезиология и реаниматология.– 1985.– №2.– С. 30–32.
7. Гольцев А.Н., Калиниченко Т.А. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть I. Характеристики гемопоэтического потенциала. // Проблемы криобиологии.– 1998.– №1.– С. 3–24.
8. Гостищев В.К., Сажин В.П., Авдovenko А.Л. Перитонит. – М.: Медицина, 1992.– 224 с.
9. Гринберг А.А. Неотложная абдоминальная хирургия.– М.: Триада-Х, 2000.– 496 с.
10. Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А., Зотова Н.В. Методология изучения системного воспаления. // Цитокины и воспаление.– 2008.– Т. 7, №1.– С. 15–23.
11. Ерюхин И.А., Белый В.Я., Ханевич М.Д. и др. Перекисное окисление липидов в генезе эндотоксикоза при остром разлитом перитоните и возможность ее коррекции гемосорбцией // Вестник хирургии.– 1987.– №10.– С. 104–109.
12. Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія.– 2003.– Т. 8, №1.– С. 142–145.
13. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело.– 1988.– №1.– С. 16–19.
14. Лукьянова Л.Д. Митохондриальная дисфункция - типовой патологический процесс, молекулярный механизм гипоксии // Проблемы гипоксии – молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / Под ред. Л.Д. Лукьяновой и И.Б. Ушакова.– М.: Медицина, 2004.– С. 8–50.
15. Матвеев Д.В., Сергеева Н.А., Гельфанд Б.Р. Нарушение метаболизма при перитоните: гемодинамика или клетка // Сов. медицина.– 1991.– №8.– С. 3–8.
16. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зеньков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты.– М. "Слово".– 2006.– 556 с.
4. Vladimirov Yu.A. Impairment of barrier properties of inner and outer membranes of mitochondria, necrosis and apoptosis // Biologicheskie Membrany.– 2002.– Vol. 19, N5.– P. 367–377.
5. Gelfand E.B., Golgrsky V.A., Gelfand B.R. Abdominal sepsis: integral assessment of severity of patients' state and polyorgan dysfunction // Anesteziologiya i Reanimatologiya. – 2000.– N3. – P. 29–33.
6. Golikov P.P., Matveev S.B., Mychko-Megrin V.V., Marchenko V.V. Regulation of oxygen exchange in patients with peritonitis in acute period // Anesteziologiya i Reanimatologiya.– 1985.– N2.– P. 30–32.
7. Goltsev A.N., Kalinichenko T.A. Human cord blood as source of hemopoietic cells for clinical application. Part. 1. Characteristics of hemopoietic potential // Problems of Cryobiology.– 1998.– N1.– P. 3–24.
8. Gostishev V.K., Sazhin V.P., Avdovenko A.L. Peritonitis.– Moscow: Meditsyna, 1992.– 224 p.
9. Grinberg A.A. Urgent abdominal surgery.– Moscow: Triada-X, 2000.– 496 p.
10. Gusev E.Yu., Yurchenko L.N., Chereshev V.A., Zotova N.V. Methodology of study of systemic inflammation // Tsitokiny i Vospaleniye.– 2008.– Vol. 7, N1.– P. 15–23.
11. Yeryukhn I.A., Belyy V.Ya., Khanevich M.D. et al. Lipid peroxidation in genesis of endotoxicosis at acute and possibility of its correction with hemosorption // Vestnik Khirurgii.– 1987.– N10.– P. 104–109.
12. General ethical principles of experiments in animals // Endokrinologiya.– 2003.– Vol. 8, N1.– P. 142–145.
13. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. Method of examining catalase activity // Lab. Delo.– 1988.– N1.– P. 16–19.
14. Lukyanova L.D. Mitochondrial dysfunction is typical pathological process, molecular mechanism of hypoxia // In: Problems of hypoxia – molecular, physiological and medical aspects / Ed. by L.D. Lukyanova and I.B. Ushakov.– Moscow: Meditsyna, 2004.– P. 8–50.
15. Matveev D.V., Sergeeva N.A., Gelfand B.R. Disorder of metabolism at peritonitis: hemodynamics or cell // Sov. Meditsyna.– 1991.– N8.– P. 3–8.
16. Menshikova E.B., Lankon V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress. Pro-oxidants and antioxidants.– Moscow: Slovo.– 2006.– 556 p.
17. Putilina F.E. Examining the content of reduced glutathione in tissues // Methods of biochemical studies / Ed. by M.I. Prokhorova.– Leningrad: Leningrad University, 1982.– P. 183–185.
18. Ryabov G.A. Hypoxia of critical states.– Moscow: Meditsyna, 1988.– 287 p.
19. Usikov F.F., Pasternak E.V., Romanova L.D. et al. Surgical model of acute purulent peritonitis // Khirurgiya.– 1984.– N8.– P. 27–29.
20. Chernov N.N. Study of glutathione reductase in liver of rats // Enzymology of tumors / Ed. by T.T. Berezov.– Moscow: University of Peoples' Friendship, 1979.– P. 96–101.
21. Shanin V.Yu. Clinical pathophysiology.– St-Petersburg, 1998.– 569 p.
22. Shurkalin B.K., Faller A.P., Gorskiy V.A., Glushkov P.S. Post-operative complications in patients with peritonitis // Khirurgiya.– 2003.– N4.– P. 32–35.
23. Patent N31847A Ukraine, IPC A01N1/02. Method of cryopreservation of hemopoietic cells of cord blood / A.O. Tsutsayeva, V.I. Grischenko, O.S. Prokopyuk et al. Appl. 05.1198. Publ. 15.12.2000. Bul. N7.– P. 1–10.
24. Kologlu M., Elker D., Altun H., Sayek I. Validation of MPI and PIA II in two different groups patients with secondary peritonitis // Hepatogastroenterology.– 2001.– Vol. 48, N37.– P. 147–151.
25. Steffes C.P., Dahn M.S., Lange M.P. Oxygen transport-dependent splanchnic metabolism in the sepsis syndrome // Arch. Surg.– 1994.– Vol. 129, N2.– P. 46–52.

17. Путилина Ф.Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях // Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой.– Л.: Изд-во Ленинград ун-та, 1982.– С. 183–185.
18. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний.– М.: Медицина, 1988.– 287 с.
19. Усиков Ф.Ф., Пастернак Е.В., Романова Л.Д. и др. Хирургическая модель острого гнойного перитонита // Хирургия.– 1984.– №8.– С. 27–29.
20. Чернов Н.Н. Исследование глутатионредуктазы в печени крыс // Энзимология опухолей / Под ред. Т.Т. Березова.– М.: Ун-т дружбы народов, 1979.– С. 96–101.
21. Шанин В.Ю. Клиническая патофизиология.– СПб: 1998.– 569 с.
22. Шуркалин Б.К., Фаллер А.П., Горский В.А., Глушков П.С. Послеоперационные осложнения у больных с перитонитом // Хирургия.– 2003.– №4.– С. 32–35.
23. Патент №31847А, Україна, МПК А01№1/02. Спосіб криоконсервування кровотворних клітин кордової крові/ А.О. Цуцаєва, В.І. Грищенко, О.С. Прокопюк та ін. Заявлено 05.11.98. Опубл. 15.12.2000 Бюл. №7.– С. 1.10.
24. Koglu M., Elker D., Altun H., Sayek I. Validation of MPI and PIA II in two different groups patients with secondary peritonitis // Hepatogastroenterology.– 2001.– Vol. 48, N37.– P. 147–151.
25. Steffes C.P., Dahn M.S., Lange M.P. Oxygen transport-dependent splanchnic metabolism in the sepsis syndrome // Arch. Surg.– 1994.– Vol. 129, N2.– P. 46–52.
26. Takahashi T., Hohda T., Sugimoto N. et al. Antioxidant roles of cellular ubiquinone and related redox cycles: potentiated resistance of rat hepatocytes having stimulated NADPH-dependent ubiquinone reductase against hydrogen peroxide toxicity // Biol. Pharm. Bull.– 1999.– Vol. 22, N11.– P. 1226–1233.

*Accepted in 01.02.2011*

*Поступила 01.02.2011*