

УДК 612.1

**Влияние Cu-содержащего соединения Cu(II)_2
 $(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ на выживаемость и показатели крови
животных с ожогами III-AB степени**

**А.Г. Карапетян, А.М. Даллакян, Н.К. Арутюнян,
Ж.Г. Петросян, В.С. Григорян**

*Национальный ожоговый центр МЗ РА
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25*

Ключевые слова: термические ожоги, время свертываемости крови, лейкоциты, тромбоциты, гемоглобин, эритроциты, металлокомплексы

Известно, что кроветворная система, как активно пролиферирующая ткань, чрезвычайно чувствительна к действию различных факторов внешней среды: ионизирующих излучений, ожогов различной природы, токсичных составляющих [5,8]. Поэтому проблема влияния патогенных факторов на систему крови представляет большой интерес.

Выявлено, что при протекании крови через ткани в период ожога происходит тепловое повреждение и деструкция эритроцитов с выходом свободного гемоглобина в плазму [7,9]. Ожоговая болезнь также вызывает выраженную лейкоцитарную реакцию [3,4]. Поэтому для оценки состояния организма животных, перенесших ожоговую травму, и процесса заживления целесообразно анализировать показатели крови (количество лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов, уровень гемоглобина, время свертываемости крови).

Одной из приоритетных задач современной медицины является поиск новых эффективных средств, способствующих лечению ожоговых травм. Требования, предъявляемые к подобным соединениям, должны быть коммерчески недорогими, достаточно стабильными, легкими в применении, низкотоксичными и обладать пролонгированным действием. Для заживления тканей при ожоге используются также препараты, которые обладают противовоспалительными, болеутоляющими и регенерирующими свойствами [2]. В этой области особый интерес представляют металлоорганические комплексы, основанные на меди и обладающие высокой антиоксидантной активностью.

Цель работы – оценка возможного благотворного влияния металлокомплекса $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ на термические ожоги путем опре-

деления токсичности, анализа выживаемости и некоторых показателей крови. Перевод организма в состояние повышенной радиорезистентности и возможность защитить организм от поражающего действия ионизирующей радиации у этого вещества были доказаны ранее.

Материал и методы

Для определения возможного терапевтического эффекта Cu-содержащего соединения $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ при термических ожогах поставлен эксперимент на белых, беспородных, половозрелых крысах обоих полов со средней массой 190г (I группа – «чистый ожог», II – «ожог+металлокомплекс», III – норма).

Животным на эпилированной поверхности кожи в области спины наносился термический ожог (30% от поверхности тела) III-AB степени. Через 30 минут после ожога внутрибрюшинно вводился исследуемый препарат в виде суспензии, дозой 50мг/кг. Далее проводился забор крови и анализ вышеперечисленных показателей крови. Определялась также токсичность этого соединения и анализировалась выживаемость (на каждую группу отводилось по 10 животных).

Определение токсичности соединения $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ проводилось с целью количественной оценки зависимости «доза—эффект». Токсичность металлокомплексов характеризовали на основе вычисления показателя $\text{ЛД}_{50/7}$, т.е. той дозы соединения, при которой наблюдается гибель 50% животных в течение 7 дней после подкожного введения вещества в организм. Для этого металлокомплексы вводили животным в постепенно возрастающих дозах — от максимально неэффективной до $\text{ЛД}_{100/7}$, т.е. до той минимальной дозы, абсолютно смертельной для 100% животных в течение 7 дней (100мг/кг – 1675мг/кг). С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу [1] в опытах на крысах вычислена среднелетальная доза — $\text{ЛД}_{50/7}$.

Гематологические параметры экспериментальных животных, а именно: количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрит и содержание гемоглобина, а также время свертываемости крови, определяли с использованием стандартного лабораторного оборудования [6].

С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу, в опытах на крысах определена среднелетальная доза $\text{ЛД}_{50/7}$, смертельная для 50% животных в течение 7 дней после подкожного введения соединения $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ в организм.

Анализ данных проводился с помощью ряда специализированных статистических пакетов: StatSoft7, SPSS-10.0 и Stat Graphics Plus. Использовали регрессионный и корреляционный методы анализа.

Результаты и обсуждение

Определение токсичности

Согласно результатам тестирований, металлокомплекс $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ оказался малотоксичным соединением: величина $\text{LD}_{50/7}$ составляла 432.2 мг/кг.

Следует отметить, что при подкожном введении в диапазоне доз от 100 мг/кг до 300 мг/кг не наблюдались нарушения поведенческих реакций и гибель животных в течение 24 часов. В случае введения высоких доз (1675 и > мг/кг) часто сразу же после инъекции наблюдались вялость и заторможенность движений животных с наступлением гибели через несколько часов.

Согласно полученным данным, в экспериментальной ожоговой группе указанные условия введения в организм металлокомплекса $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ не вызывали гибели животных не только в течение 7 дней, но и через 30 дней после инъекции. Только при дозе 300 мг/кг у животных были отмечены преходящие внешние признаки депрессивного действия Cu(II)_2 - комплекса на локомоторную активность (гиподинамия), которые через 24 часа уже не обнаруживались.

За состоянием подопытных животных (доза 270мг/кг) проводили мониторинг и определяли гематологические показатели. На всех сроках эксперимента не отмечалось каких-либо отклонений в поведении и внешнем виде крыс. Гибели животных также не наблюдалось. Результаты анализа гематологических показателей у группы интактных животных и группы с инъекцией металлокомплекса приведены в табл. 1. Согласно этой таблице наблюдается достоверное повышение таких показателей, как время свертываемости крови и количество лейкоцитов на всем протяжении эксперимента, что свидетельствует о значительном влиянии соединения на организм животных. Что касается уровня эритроцитов, то на 7-е сутки было отмечено достоверное понижение, а спустя еще 7 суток – резкое повышение уровня. К концу эксперимента наблюдается тенденция к нормализации гематологических показателей.

Таблица 1

Гематологические показатели при анализе токсичности

Сутки	Норма	7-е	14-е	30-е
Время свертываемости крови (сек)	311.0±19.00	501.0±30.39 (*)	476.0±32.34 (*)	322.0±21.00
Лейкоциты (N/ μL)	11500.0±420.0	15400.0±529.15 (*)	14360±591.27 (*)	13500.0±520.0
Тромбоциты (N/ μL)	520000±18230	505000±18708.3	534000±22271.06	526000±19430
Гемоглобин (g/L)	138.1±5.82	139.0±1.18	146.0±1.38	139.1±2.82
Эритроциты (N/ μL)	5823000 ±278800	5254000 ±113075.2 (*)	6538000 ±126427.8 (*)	5852000 ±217800

* p<0.05

Определение выживаемости

После гибели 3 крыс в первые сутки после ожога дозу последующих инъекций уменьшили до 20 мг/кг. Данная доза соединения будет вводиться через каждые 2-е суток до отторжения струпа ожоговой раны. На 5-е сутки после воздействия погибла еще 1 крыса. Динамика выживаемости животных из группы «ожог+инъекции металлокомплекса $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ » с соответствующей регрессионной кривой и уравнением, описывающим динамику, представлена на рисунке, где y – процент выживших животных, x – день эксперимента.

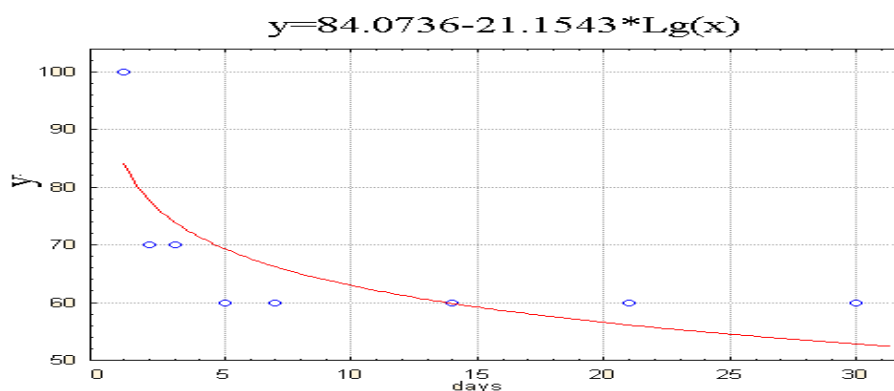


Рисунок. Динамика выживаемости в группе «ожог+ металлокомплекс»

Проводили также визуальный мониторинг за состоянием ожоговых ран 2 групп подопытных крыс («ожог» и «ожог+металлокомплекс»), который показал, что отторжение струпа отмечалось примерно в одинаковые сроки, в течение 12-16 дней после нанесения ожога. Что касается заживления ран, эпителизации, оволосения, то в группе «ожог+металлокомплекс» эти процессы проходят интенсивнее, чем в группе «ожог», что говорит о положительном влиянии данного металлокомплекса на обожженный организм.

Анализ гематологических показателей у групп «ожог» и «ожог+металлокомплекс»

В определенные сроки (3,7,14,21,30-е сутки) производился забор крови из хвостовой вены для гематологического анализа. Результаты анализа приведены в табл. 2. Значения показателей в скобках соответствуют группе «ожог».

Таблица 2

Изменения гематологических показателей у групп «ожог» и «ожог+металлокомплекс»

Сутки	3-е	7-е	14-е	21-е	30-е
Время свертываемости крови (сек)	265.0±17.27 (415,0±7,63) (*)	321.25±21.85 (327,5±32,5)	279.38±15.39 (360,0±34,64) (*)	238.33±14.81 (338.5±43.55) (*)	276.67±23.33 (316,7±52,47)
Лейкоциты (N/μL)	11233.0 ±834.0 (8300.0±590.0)	11600.0 ±578.0 (10200±2200.0)	14100.0 ±105.0 (8800±700) (*)	8600 ±460.0 (7360±650.0)	12530 ±230.0 (5930.0±600.0) (*)
Тромбоциты (N/μl)	531666.67 ±23190.04 (588333,3 ±44378,42)	545000.0 ±22598.0 (637500.0 ±2500.0) (*)	491250.0 ±17132.62 (495000.0 ±66583,28)	503333.3 ±34801.02 (600000 ±58291.5)	643333.3 ±69841.09 (705000 ±50000)
Гемоглобин (g/L)	131.87±1.65 (134,6±6,06)	140.75±1.29 (136,5±5,5)	131.88±2.7 (163,3±10,13) (*)	142.3±1.45 (162.3±1.61) (*)	147.37±6.39 (161,3±1,76) (*)
Эритроциты (N/μL)	4.77±0.15 (5,92±0,13) (*)	5.4±0.31 (3,13±0,1) (*)	5.85±0.22 (6,56±0,18) (*)	5.84±0.35 (6.47±1.125)	6.33±2.6 (6,38±1,9)

* p<0.05

Из приведенной таблицы видно, что в ранние сроки после ожога и инъекции комплекса наблюдается достоверное понижение ВСК (эта тенденция сохраняется до конца эксперимента) и уровня эритроцитов относительно группы с «чистым ожогом», а начиная с 14 суток отмечено достоверное понижение уровня гемоглобина и повышение уровня лейкоцитов.

Таким образом, металлокомплекс $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ оказался малотоксичным соединением: величина $\text{LD}_{50/7}$ составляла 432.2 мг/кг. В случае введения высоких доз (1675 и + мг/кг) часто сразу же после инъекции наблюдались вялость и заторможенность движений животных с наступлением гибели через несколько часов.

При подкожном введении в диапазоне доз от 100 мг/кг до 300 мг/кг не наблюдались нарушения поведенческих реакций и гибель животных в течение 24 часов.

При инъекции в умеренных дозах (270мг/кг) наблюдалось достоверное повышение таких показателей, как время свертываемости крови и количество лейкоцитов почти на всем протяжении эксперимента, что свидетельствует о значительном влиянии соединения на организм животных. Что касается уровня эритроцитов, то на 7-е сутки было отмечено достоверное понижение, а спустя еще 7 суток – резкое повышение. К концу эксперимента наблюдается тенденция к нормализации гематологических показателей.

Приведена динамика выживаемости животных из группы «ожог+инъекции металлокомплекса $\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ » с соответствующей

регрессионной кривой и уравнением, $y=84,073-21,15x$, позволяющим с помощью экстраполяции прогнозировать изменение процента выживаемости в отдаленные сроки эксперимента.

Процессы заживления ран, эпителизации, оволосения в группе «ожог+комплекс» проходят интенсивнее, чем в группе чистого ожога, что говорит о благотворном влиянии данного металлокомплекса на обожженный организм.

Поступила 03.12.20

**Cu-պարունակող $Cu(II)_2(3,5-DIPS)_4(H_2O)_3$ միացության
ազդեցությունը III-AB աստիճանի այրվածքներով կենդանիների
ապրելունակության և արյան ցուցանիշների վրա**

**Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դավաթյան, Ն.Կ. Հարությունյան,
Ժ.Հ. Պետրոսյան, Վ.Ս. Գրիգորյան**

Ժամանակակից բժշկության գերակա խնդիրներից է նոր արդյունավետ միջոցների որոնումը այրվածքային վնասվածքների բուժման գործում: Այս ոլորտում առանձնահատուկ հետաքրքրություն է առաջացնում բարձր հակաօքսիդիչ ակտիվությամբ օժտված մետաղ-օրգանական համալիրների կիրառումը: Աշխատանքի նպատակն է գնահատել $Cu(II)_2(3,5-DIPS)_4(H_2O)_3$ մետաղական համալիրի հնարավոր դրական ազդեցությունը ջերմային այրվածքներով կենդանիների օրգանիզմի վրա՝ որոշելով այդ միացության թունաբանական հատկությունները, վերլուծելով ապրելունակությունը և արյան որոշ ցուցանիշներ: Պարզվեց, որ $Cu(II)_2(3,5-DIPS)_4(H_2O)_3$ մետաղական կոմպլեքսը ցածր թունաբանական հատկություններով միացություն է. $LD_{50/7-ը}$ 432,2մգ/կգ է: Բարձր չափաբաժինների (1675 մգ/կգ և ավելի) ներարկումից անմիջապես հետո հաճախ նկատվում էին կենդանիների թուլությունն ու շարժումների արգելակումը, ինչը մի քանի ժամ անց ավարտվում էր մահով: 100 մգ/կգ մինչև 300 մգ/կգ միացության միջակայքում 24 ժամվա ընթացքում չեն նկատվել վարքի խանգարումներ և կենդանիների մահ:

Չափավոր (270 մգ/կգ) դոզայով ներարկելիս գրեթե ամբողջ փորձի ընթացքում նկատվել է այնպիսի ցուցանիշների զգալի աճ, ինչպիսիք են արյան մակարդման ժամանակը և լեյկոցիտների քանակը, ինչը վկայում է միացության զգալի ազդեցության մասին կենդանիների օրգանիզմի վրա: Ինչ վերաբերում է էրիթրոցիտների մակարդակին, ապա 7-րդ օրը նկատվել է զգալի անկում, և ևս 7 օր անց՝ կտրուկ աճ:

Փորձի ավարտին նկատվել է արյունաբանական ցուցանիշների կանոնավորման միտում:

Ներկայացվել է «այրվածք + $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ նյութի ներարկում» կենդանիների խմբի ապրելունակության դինամիկան՝ համապատասխան ռեգրեսիայի կորով և ստացված բանաձևով, որը թույլ է տալիս էքստրապոլյացիայի միջոցով կանխատեսել փորձի երկարատևության դեպքում տոկոսի փոփոխությունները: Վերքերի բարելավումը, էպիթելացումը, մազերի աճը «այրվածք + նյութ» խմբում ավելի ինտենսիվ են ընթանում, քան մաքուր այրվածքների խմբում, ինչը վկայում է այս մետաղական համալիրի դրական ազդեցության մասին այրվածքային վնասվածքներով կենդանիների օրգանիզմի վրա:

Influence of Cu-containing Compounds $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ on Survival and Blood Indicators of Animals with Burns III-AB Degree

A.G. Karapetyan, A.M. Dallakyan, N.K. Harutunyan, J.H. Petrosyan, V.S. Grigoryan

One of the priority tasks of modern medicine is the search for new effective means to facilitate the treatment of burn injuries. In this field, the use of metal-organic complexes with high antioxidant activity is of particular interest.

The aim of the work was to evaluate the possible beneficial effect of the $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ metal complex on thermal burns by determining toxicity and analyzing survival and some blood parameters. The $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ metal complex turned out to be a low-toxic compound: the $\text{LD}_{50/7}$ value was 432.2 mg/kg. In the case of the introduction of high doses (1675 and + mg/kg), often immediately after the injection, lethargy and inhibition of movements of the animals were observed with the onset of death after a few hours. When administered subcutaneously in the dose range from 100 mg/kg to 300 mg/kg, behavioral disorders and death of animals were not observed within 24 hours. When injected in moderate doses (270 mg/kg), there was a significant increase in such indicators as blood clotting time and the number of leukocytes almost throughout the experiment, which indicates a significant effect of the compound on the animal organism. As for the level of erythrocytes, on the 7th day there was a significant decrease, and after another 7 days - a sharp increase. By the end of the experiment, a tendency towards normalization of hematological parameters is observed. The dynamics of the survival of animals from the group "Burn + injections of the metal complex $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$ with the corresponding regression curve and an equation

that allows using extrapolation to predict changes in the percentage of survival in the long term of the experiment. The processes of wound healing, epithelialization, hair growth in the "burn + complex" group are more intense than in the pure burn group, which indicates the beneficial effect of this metal complex on the burned body.

Литература

1. Беренс Г., Клей П.Д., Микрoхимический анализ, ч.1, Научное хим.-техн. Изд. НТУ ВСНХ, 1928.
2. Булоян С.А. Действие мази Дермафен на регенераторные процессы кожи белых крыс после экспериментального термического ожога. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2015, 10-2, с. 268-272.
3. Гублер Е.В., Хребтович В.Н., Суббота А.Г. Термические ожоги и ожоговая болезнь. В кн.: Моделирования заболеваний. Под ред. С.В. Андреева. М., 1972, с.46-59.
4. Зиновьев Е.В. и др. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. 2006, 3, с.73-74.
5. Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Петросян Ж.Г., Арутюнян Н.К., Порция М., Сантини К. Оценка показателей периферической крови и цитогенетических показателей при использовании соединений медь-органических комплексов после ожога. Мед.наука Армении НАН РА, 2020, т. LX, 1, с. 46-54, ISSN: 0514-7484.
6. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики, М., 2007.
7. Логинов Л.П., Смирнов С.В., Хватов В.Б. и др. Гемотрансфузии у обожженных в процессе восстановления кожного покрова. Сб. науч. тр. II съезда комбустиологов России, г. М., 2008, с.108–109.
8. Окладникова Н.Д., Хохряков В.В., Шевкунов В.А., Пестерникова В.С., Шадилов А.Е. Клинико-цитогенетическое описание случая высокой инкорпорации радионуклида. (24 года наблюдений). Радиобиология и радиоэкология. 2004, т.44, 4, с.115-118.
9. Слесаренко С.В. Анемия при ожоговой болезни и возможности ее коррекции. Вестник хирургии им. И.И. Грекова, 1997, т.156, 4, с. 37–41.