

УДК 612.1

DOI:10.54503/0514-7484-2022-62.3-81

Изменение показателей крови при применении медьорганического комплекса $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ после ожога

А.Г. Карапетян¹, К. Сантини², М. Пеллеи², В.С. Григорян³,
А.М. Даллакян¹, Ж.Г. Петросян¹

¹Национальный ожоговый центр
0054, Ереван, Давидашен, н/я 25,

²School of Science and Technology, University of Camerino
62032, Camerino (MC), Italy,

³Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22

Ключевые слова: ожог, облучение, медьорганические комплексы, количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина, гематокрита

Введение

Известно, что кроветворная система, как активно пролиферирующая ткань, чрезвычайно чувствительна к действию различных внешних факторов, в том числе и ожогов. Поэтому проблема влияния патогенных факторов на систему крови и гемостаз представляет большой интерес. Обширные глубокие ожоги и облучение в относительно высоких дозах вызывают возникновение комплекса патологических функциональных и морфологических изменений внутренних органов и систем организма. Ожоговые травмы вызывают также глубокие изменения в гематологических показателях.

Одной из наиболее актуальных проблем современной комбустиологии является поиск новых эффективных средств, ускоряющих заживление ожоговых ран. Подобные препараты должны обладать высокой эффективностью и длительностью действия. Согласно П.П. Саксонову и соавт. [11], требования, предъявляемые к таким препаратам, следующие: препарат должен быть достаточно эффективным и не вызывать выраженных побочных реакций; действовать быстро и сравнительно продолжительно; должен быть нетоксичным; не должен оказывать даже кратковременного отрицательного влияния на организм; иметь удобную лекарственную форму для перорального введения или инъекции; препарат должен быть устойчивым при хранении, долго сохранять свои фармакологические свойства.

При протекании крови через ткани в период ожога происходит тепловое повреждение и деструкция эритроцитов с выходом свободного гемоглобина в плазму [8,9,12]. Ожоговая болезнь также вызывает выраженную лейкоцитарную реакцию, которая описана многими исследователями в клинике и эксперименте [5,6].

Для заживления тканей при ожоге используются препараты, которые обладают противовоспалительными, болеутоляющими и регенерирующими свойствами [3]. В этой области особый интерес представляют металлоорганические комплексы, основанные на меди и обладающие высокой антиоксидантной активностью.

Биогенная роль меди заключается в участии в процессах кроветворения [10]. Микроэлемент участвует в синтезе гемоглобина, осуществляющего перенос кислорода в организме, повышает скорость кровообращения. Важна медь и для нервной ткани, она входит в состав миелиновых оболочек нервных клеток, изолирующих нервные волокна. Медь активно участвует в метаболизме углеводов: активизирует окисление глюкозы, замедляет разрушение гликогена в печени. Для иммунной системы медь тоже играет важное значение. Металл нейтрализует токсины микроорганизмов, пролонгирует действие антибактериальных препаратов [7,13], уменьшает воспалительные реакции.

Использование сульфата меди способствует быстрому заживлению кожных покрытий ожоговых ран, поэтому применение сульфата меди было предложено в регенеративной медицине [14,15]. Согласно нашим ранним исследованиям [1,16], подобные комплексы, основанные на меди, обладают низкой токсичностью.

Целью исследования было выявление возможного положительного действия на ожоги комплекса меди $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$. Это соединение было выбрано, так как имеет ряд преимуществ: является недорогим, стабильным, легким в применении, низкотоксичным и обладает пролонгированным действием. Оно представляет собой гомолептическое водорастворимое соединение (в эксперименте мы растворяли в DMSO). Мы попытались сопоставить его терапевтический эффект, в случае термических ожогов, с химико-физическими свойствами.

Материал и методы

С целью выявления терапевтического действия при термическом ожоге металлокомплекса $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$, синтезированного в Италии (School of Science and Technology, University of Camerino, Italy), поставлена серия экспериментов *in vivo* на белых беспородных, половозрелых крысах средней массой 180г.

Животные были распределены по 3 группам (по 10 в каждой группе): I – интактные животные (без ожога), II – только с термическим ожогом, III – термический ожог + инъекция комплекса.

Животным на эпилированную поверхность кожи в области спины наносился термический ожог III АВ степени (30% поверхности тела). После нанесения ожога животным внутривенно вводился комплекс в растворе DMSO дозой 40 мг/кг. Препарат вводился через час после ожоговой травмы (1-е введение). Далее препарат вводили через день дозой 20мг/кг до отторжения струпа раны. Взяты гематологические показатели периферической крови (из хвостовой вены) в определенные сроки исследований (3,7,14,21 и 30-е сутки). Определялись следующие показатели: время свертываемости крови, число лейкоцитов (по классической методике с помощью камеры Горяева), уровень гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, гематокрита. Проводился также визуальный мониторинг ожоговой раны до полного заживления.

Активность этого соединения оценивалась также по выживаемости и средней продолжительности жизни. Производился мониторинг за выживаемостью и средней продолжительностью жизни животных, описывающих динамику гибели подопытных крыс в течение 30-дневного эксперимента (после ожога).

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью ряда компьютерных программ, предназначенных для статистической обработки массивов цифровых данных. Наряду с разработанными нами программами, использованы специализированные статистические пакеты Statsoft-7, SPSS-10.0, MedCalc и StatGraphics Plus. Анализ проведен с помощью корреляционного и регрессионного методов [2,4].

Результаты и обсуждение

Визуальный мониторинг заживления раны показал, что регенерация эпителия, обрастание шерстью активнее отмечались в группе с внутривенной инъекцией комплекса, чем в группе с чистым ожогом.

Результаты (табл.1) по выживаемости и средней продолжительности жизни крыс в 3 группах показали, что в группе крыс с введенным комплексом показатели значительно лучше (100%), чем у животных только с ожогами. Мы получили идентичную картину (в случае введения соединения) этих показателей с интактными животными.

Кривая динамики выживаемости в случае чистого ожога описана логарифмическим регрессионным уравнением: $y=109,93-39,72\lg(x)$, где y – выживаемость, x – дни экспериментов. Полученное уравнение дает возможность прогнозировать исход в более отдаленных сроках, используя метод аппроксимации. Данные по выживаемости свидетельствуют о значительном благотворном влиянии соединения на ожоговое поражение.

Таблица 1

Выживаемость и средняя продолжительность жизни крыс

Группа	Выживаемость в %	Средняя продолжительность жизни в сутках
Интактные животные	100	30
Чистый ожог	57	20,57
Ожог+инъекция	100	30

Гематологические показатели анализировались в динамике в течение всего срока эксперимента. Как видно из результатов, которые приведены в табл. 2, если чистый ожог вызывает существенное повышение количества лейкоцитов в крови животных до конца исследований, то в группе с инъекцией соединения наблюдается умеренный лейкоцитоз, который завершается нормализацией этого показателя к концу исследований.

На 30-е сутки отмечается достоверное отличие уровня лейкоцитов в группах чистого ожога и с инъекцией комплекса, что свидетельствует о благотворном влиянии комплекса $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ на ожоговую травму. Согласно литературным источникам, ожоги вызывают повышение свертываемости и вязкости крови, что подтверждают экспериментальные данные, полученные нами. Чистый ожог 30% поверхности привел к достоверному сокращению времени свертываемости (только к 30-м суткам отмечена нормализация этого показателя), а в случае применения комплекса время свертываемости крови этой группы сопоставимо с нормальными значениями (у интактной группы), что также говорит об ослаблении влияния факторов ожога с самого начала эксперимента.

Ожоговая травма, приводящая к угнетению гемопоэза, является причиной выраженной эритропении и анемии. Согласно табл. 2, на 7-е сутки исследования в группе чистого ожога наблюдалось значительное понижение уровня эритроцитов, в отличие от группы с введенным комплексом, что также указывает на благотворное воздействие комплекса. Наблюдалось также достоверное повышение уровня гематокрита в группе с чистым ожогом, в отличие от уровня гематокрита в группе с применением комплекса $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$, который незначительно отличался от нормальных значений, что также указывает на смягчение действия ожога.

Таблица 2

Показатели крови у крыс при чистом ожоге и инъекции $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$

Показатели	Сутки	Чистый ожог (контрольная группа)	Ожог+инъекция
ВСК (норма: 363,0± 23,03 сек)	3	(*) 264,0±12,88	372,2±16,96 *
	7	(*) 215,0±14,32	314,4±23,49 *
	14	(*) 225,6±13,09	(*) 296,0±13,56 *
	21	(*) 277,8±15,77	(*) 301,4±14,99
	30	330,0±18,44	357,0±23,75
Лейкоциты (норма: 8,6± 0,68 x10 ⁹ /л)	3	(*) 14,72±0,81	(*) 11,64±1,05 *
	7	(*) 16,92±0,618	(*) 13,24±1,22 *
	14	(*) 11,320±0,89	(*) 12,4±0,75
	21	(*) 13,64±0,67	(*) 11,28±0,73 *
	30	(*) 15,96±0,46	8,12±1,31 *
Тромбоциты (норма: 522000,0± 10560,0 Nцл)	3	(*) 627000,0±10793,52	492000,0±17930,4 *
	7	(*) 681400,0±62572,38	(*) 471000±19455,08 *
	14	609000,0±52115,26	(*) 431000±24969,98 *
	21	590000,0±37524,98	522000±20832,67
	30	(*) 571000,0±22934,69	589000,0±48228,62
Эритроциты (норма: 6,2± 0,35 x10 ¹² /л)	3	5,92±0,13	(*) 5,08±0,33 *
	7	(*) 3,13±0,1	5,89±0,82 *
	14	6,56±0,18	5,38±0,27 *
	21	6,47±0,10	(*) 4,68±0,26 *
	30	6,38±1,9	(*) 5,35±0,19
Гемоглобин (норма: 158,0± 14,6 г/л)	3	134,6±6,06	131,0±5,76
	7	136,5±5,5	131,5±2,77
	14	163,3±10,13	170,0±16,15
	21	162,3±5,95	147,9±4,02 *
	30	161,3±1,76	158,76±4,14
Гематокрит (норма: 37,2±1,75 %)	3	(*) 47,6±1,4	43,5±3,53
	7	(*) 49,1±0,91	35,3±1,95 *
	14	(*) 47,3±1,11	34,68±1,23 *
	21	(*) 48,3±1,18	39,54±3,92 *
	30	(*) 44,5±1,71	(*) 43,1±1,96

(*) достоверные отличия между группами норма и ожог, ожог+комплекс;

* достоверные отличия при сравнении групп ожог и ожог+комплекс

В результате гематологических исследований было получено, что соединение $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$, обладает способностью предотвратить или ослабить действие глубоких ожогов на организм животных, что дает возможность продолжить исследования свойств и биологической активности этого комплекса как перспективного и эффективного соединения.

Поступила 21.04.22

Արյան ցուցանիշների փոփոխությունները այրվածքի դեպքում $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ պղնձի օրգանական համալիրը կիրառելուց հետո

**Ա.Գ. Կարապետյան, Կ. Սանտինի, Մ. Պելլեի, Վ.Ս. Գրիգորյան,
Ա.Ս. Դալլաքյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան**

Այրվածքային վնասվածքներն արյունաբանական ցուցանիշների խոր փոփոխություններ են առաջացնում: Նման փոփոխությունների ծանրությունը և խանգարումների զարգացման արագությունը կախված են վնասվածքների քանակական ցուցանիշներից (տարածք, աստիճան):

Ժամանակակից բժշկության ամենահրատապ խնդիրներից են այրվածքային վնասվածքները բուժելու նոր արդյունավետ միջոցների որոնումն ու մշակումը: Նման պատրաստուկները պետք է արդյունավետ լինեն, չառաջացնեն ընդգծված անբարենպաստ ռեակցիաներ, գործեն արագ և երկար ժամանակ և լինեն ոչ թունավոր: Այրվածքների ժամանակ հյուսվածքների բուժման համար օգտագործվում են հակաբորբոքային, ցավազրկող և վերականգնող հատկություններ ունեցող դեղամիջոցներ: Այս ոլորտում առանձնահատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում պղնձի վրա հիմնված մետաղ-օրգանական համալիրները:

Պղնձի կենսագեն դերը արյունաստեղծման գործընթացներին մասնակցելն է: Մետաղը չեզոքացնում է միկրոօրգանիզմների տոքսինները, երկարաձգում է հակաբակտերիալ դեղամիջոցների ազդեցությունը և նվազեցնում բորբոքային ռեակցիաները:

Պղնձի սուլֆատի օգտագործումը նպաստում է մաշկի ծածկույթների այրվածքային վերքերի արագ ապաքինմանը: Նման համալիրներն ունեն ցածր թունաբանական հատկանիշներ:

Հետազոտության նպատակն է բացահայտել այրվածքների վրա $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ պղնձի համալիրի հնարավոր դրական ազդեցությունը:

Արյունաբանական ուսումնասիրությունների և ապրելունակության մոնիթորինգի (մշտադիտարկման) արդյունքում պարզվել է, որ $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ միացությունն ունի կենդանիների մարմնի վրա խոր այրվածքների ազդեցությունը կանխելու կամ նվազեցնելու հատկություն: Այդ եզրակացությունը հաստատվել է նաև ապրելունակության տվյալների միջոցով (100% «այրվածք + ներարկում» դեպքում):

Changes in Blood Indicators When Using Copper-Organic Complex $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ After Burn

A. G. Karapetyan, C. Santini, M. Pelley, V. S. Grigoryan, A. M. Dallakyan, Zh. H. Petrosyan

Burn injuries cause profound changes in hematological parameters. The severity of such changes and the speed of development of disorders depend on the quantitative parameters of injuries (area, degree).

One of the most urgent problems of modern medicine is the search and development of new effective means of healing burn injuries. Such preparations must be effective, should not cause pronounced adverse reactions, act quickly and for a long time, and must be non-toxic. Medicines with anti-inflammatory, pain-relieving and restorative properties are used for the treatment of tissues in burns. In this field, metal-organic complexes based on copper are of particular interest.

The biogenic role of copper is to participate in the processes of hematopoiesis. The metal neutralizes the toxins of microorganisms, prolongs the action of antibacterial drugs, and reduces inflammatory reactions.

The use of copper sulfate promotes rapid healing of the skin coverings of burn wounds. Such complexes have low toxicity.

The aim of the study was to identify a possible positive effect on burns of the copper complex: $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$.

As a result of hematological studies and monitoring of survival, it was found that the compound $C_{16}H_{14}CuN_8O_4$ has the ability to prevent or reduce the effect of deep burns on the body of animals. The findings were confirmed by survival data (100% after burn + injection).

Литература

1. Баджян С.А., Малакян М.Г., Егиазарян Д.Э., Даллакян А.М., Вардеванян Л.А. Сравнительное изучение радиозащитной активности комплексов меди с шиффовыми основаниями, производными L-тирозина и L-фенилаланина. Актуальные проблемы радиационной безопасности, Ереван, 2014, с.61-64.
2. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. М., Телеком, 2013, 288 с., ISBN 978-5-9912-0326-5.
3. 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.
4. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов Statistica и Excel, М., Форум-Инфра-М, 2004.
5. 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.
6. Зиновьев Е.В. и др. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости, 2006, 3, с.73-74.
7. Кароматов И.Д. Медь и его значение в медицине. Электронный научный журнал «Биология и интегративная медицина», 2017, 11.

8. *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, М., 2008, с.108–109.
9. *Муразян Р.И., Илюхин А.В.* О деструкции эритроцитов при обширных ожогах. Клиническая медицина, 1971, 6, с. 44–49.
10. *Родимин Е.М.* Лечение медью и благородными металлами, НОУ СТЦ «Университетский», М., 2009, ISBN 978-5-9900135-7-5.
11. *Саксонов П.П., Шапков В.С., Сергеев П.В.* Радиационная фармакология. М., 1976.
12. *Слесаренко С.В.* Анемия при ожоговой болезни и возможности ее коррекции. Вестник хирургии им. И.И. Грекова, 1997, т.156, 4, с. 37–41.
13. *Шут В.Н., Мозжаров С.Е., Янченко В.В.* Физические и антибактериальные свойства ультрадисперсных порошков меди. Вестник Витебского государственного технологического университета, 2016, 2(31), с.97-105.
14. *Barralet J., Gbureck U., Habibovic P., Vorndran ..., Gererd C. and Doillon J.* Tissue Eng, Part A, 2009, 15, 1601-1609.
15. *Narayanan G., Bharathidevi S. R., Vuyyuru H., Muthuvel B. and Konerirajapuram Natrajan S.* PLoS One, 2013, 8, e71982.
16. *Poghosyan A. S., Dallakyan A. M., Karapetyan A. G., Hovhannesyan A. N.* Role and probable mechanisms of polyploidy cells formation in irradiated organism. International Conference Radiation Safety challenges in the 21st Century. Proceedings, Yerevan, 2012, p.85-86.