

УДК 612.1

DOI:10.54503/0514-7484-2023-63.4-89

Влияние металлокомплекса $C_{10}H_{14}CuO_4$ на выживаемость, цитогенетические показатели и показатели крови животных с ожогами III-AB степени

А.Г. Карапетян, А.М. Даллакян, Ж.Г. Петросян, В.С. Григорян

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

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

Известно, что при тяжелых ожоговых травмах наблюдаются выпадение функций кожного покрова, потеря плазмы и нарушение обмена веществ. Отмечаются и изменения показателей крови. В частности, обнаруживается лейкоцитоз, гиперкалиемия и гипопротейнемия, повышение уровней гематокрита и гемоглобина вследствие сгущения крови. Кровотворная система, как активно пролиферирующая ткань, чрезвычайно чувствительна к действию ожогов различной природы [5,8]. Выявлено, что при протекании крови через ткани в период ожога происходят 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 $C_{10}H_{14}CuO_4$ на термические ожоги путем определения

токсичности, анализа выживаемости и некоторых цитогенетических показателей и показателей крови.

Материал и методы

Для определения возможного терапевтического эффекта Cu-содержащего соединения $C_{10}H_{14}CuO_4$ при термических ожогах поставлен эксперимент на белых, беспородных, половозрелых крысах обоих полов средней массой 180г (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 $C_{10}H_{14}CuO_4$ проводилось с целью количественной оценки зависимости доза—эффект. Токсичность металлокомплексов характеризовали на основе вычисления показателя $LD_{50/7}$ (1815мг/кг), 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 $LD_{100/7}$, т.е. до той минимальной дозы, абсолютно смертельной для 100% животных в течение 7 дней (100мг/кг – 3500мг/кг). С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу [1] в опытах на крысах вычислена среднелетальная доза — $LD_{50/7}$.

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

С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу, в опытах на крысах определена среднелетальная доза $LD_{50/7}$, смертельная для 50% животных в течение 7 дней после подкожного введения соединения $C_{10}H_{14}CuO_4$ 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 $C_{10}H_{14}CuO_4$ оказался малотоксичным соединением: величина $LD_{50/7}$ составляла 1815 мг/кг.

Следует отметить, что при подкожном введении в диапазоне доз от 100 мг/кг до 700 мг/кг не наблюдались нарушения поведенческих реакций и гибель животных в течение 24 часов. В случае введения высоких доз (3500 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 $C_{10}H_{14}CuO_4$ не вызывали гибели животных не только в течение 7 дней, но и через 30 дней после инъекции. Только при дозе 750-800 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. К концу исследований не было найдено достоверных различий цитогенетических показателей между группой интактных животных и инъекцированных металлокомплексом $C_{10}H_{14}CuO_4$ (доза 800 мг/кг) (табл. 1).

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. Гибель животных также не наблюдалась.

Таблица 1

*Цитогенетические показатели
(при определении токсичности $C_{10}H_{14}CuO_4$ спустя 30 суток)*

Показатели	Интактные	$C_{10}H_{14}CuO_4$ (30 суток)
МИ в %	20,35±2,8	21,2±3,4
ХА в %	2,6±0,26	2,72±0,3
ПК в %	0,5±0,08	0,5±0,06

Результаты анализа гематологических показателей у группы интактных животных и группы с инъекцией металлокомплекса приведены в табл. 2.

Таблица 2
Гематологические показатели при анализе токсичности

Сутки	Норма	3-и	7-е	14-е	21-е	30-е
ВСК(сек)	311,0 ±19,00	380,8 ±24,94 (*)	236,3 ±34,87	273,9 ±16,3	246,7 ±15,14 (*)	260,7 ±30,23
Лейкоциты (N/μL)	11500,0 ±420,0	12180 ±700,76	17000 ±1568 (*)	15828,6 ±1853,92 (*)	12542,9 ±1026,06	12342,9 ±994,95
Тромбоциты (N/μL)	520000 ±18230	409500 ±19442,94 (*)	307777,68 ±20751,69 (*)	417142,9 ±50105,33 (*)	477142,9 ±35031,57	393571,4 ±21484,06 (*)
Эритроциты (N/μL)	5823000 ±278800	3761800 ±727104,24 (*)	5752222,2 ±275301,74	5429142,9 ±285458,31	4351428,6 ±256751,02 (*)	5477142,9 ±230854,67
Гемоглобин (g/L)	138,1 ±5,82	141,8 ±2,89	162,3 ±2,17 (*)	159,5 ±3,77 (*)	161,8 ±3,9 (*)	157,8 ±3,16 (*)
Гематокрит (%)	43,8 ±2,1	46,2 ±2,2	40,0 ±2,11	48,7 ±1,31 (*)	52,8 ±2,76 (*)	51,2 ±1,37 (*)

(*) p<0,05

Согласно этим данным, наблюдается достоверное повышение ВСК на 3-и сутки и тенденция к нормализации на остальных сроках. На 7-е и 14-е сутки происходит достоверное повышение количества лейкоцитов (что происходит при любых воспалительных процессах) с дальнейшей нормализацией. Наблюдается также достоверное повышение гемоглобина и гематокрита, снижение уровней тромбоцитов почти на всем протяжении эксперимента, что свидетельствует о значительном влиянии соединения на организм животных. К концу эксперимента наблюдается тенденция к нормализации большинства гематологических показателей.

Определение выживаемости после ожога + C₁₀H₁₄CuO₄

Препарат в виде суспензии, дозой 50мг/кг, вводился через каждые 2-е суток до отторжения струпа ожоговой раны. Выживаемость составила 90% (в отличие от I группы – 80%). При анализе динамики выживаемости животных из II группы были получены регрессионная кривая и уравнение, описывающее динамику: $y=105,49-8,164lg(x)$, где y – процент выживших животных, x – день эксперимента.

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 про-

цессы 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. 3. Значения показателей в скобках соответствуют I группе.

Таблица 3
Изменения гематологических показателей у групп ожог (в скобках) и ожог+ $C_{10}H_{14}CuO_4$

Сутки	Норма	3-е	7-е	14-е	21-е	30-е
DCR (сек)	311.0 ±19.00	372,3 ±25,96 (415,0 ±7.63) (*)	248,7 ±24,18 (327.5 ±32.5) (*)	167,6 ±8,38 (360,0 ±34,64) (*)	178,8 ±15,05 (338,5 ±43,55) (*)	179,6 ±10,13 (316,7 ±52,47) (*)
Лейкоциты (N/ μ L)	11500.0 ±420.0	13222,2 ±1371,72 (8300,0 ±590,0) (*)	19810,0 ±726,7 (10200,2 ±200,0) (*)	19755,6 ±1165,13 (8800 ±700,0) (*)	17725,0 ±1362,74 (7360,0 ±650,0) (*)	16450 ±1033,54 (5930,0 ±600,0) (*)
Тромбоциты (N/ μ l)	520000 ±18230	381666,7 ±26114,07 (588333,3 ±44378,42) (*)	423500,0 ±21187,65 (637500,0± 2500,0) (*)	493333,3 ±27233,56 (495000,0±66 583,28) (*)	487857,1 ±50034,00 (600000,0 ±58291,5) (*)	425625,1 ±25167,95 (705000±500 00) (*)
Эритроциты (N/ μ L)	5823000 ±278800	5480000,0 ±424980,39 (5920000,0 ±130000,0)	4571000,0 ±226634,56 (3130000,0 ±100000,0) (*)	4855555,6 ±274302,71 (6560000 ±180000,0) (*)	474125,0 ±292156,01 (6470000,0 ±1125000,0) (*)	5436500,0±2 44682,52 (6380000 ±1900000)
Гемоглобин (g/L)	138.1 ±5.82	143,4 ±6,11 (134,6 ±6,06)	139,5 ±6,16 (136,5 ±5,5)	145,9 ±4,69 (163,3 ±10,13)	139,9 ±4,8 (162,3 ±1,61) (*)	149,9 ±3,3 (161,3 ±1,76) (*)
Гематокрит (%)	43.8 ±2.1	41,5 ±1,68 (47,6 ±1,4) (*)	34,6 ±2,58 (49,1 ±0,91) (*)	39,0 ±1,98 (47,3 ±1,11) (*)	41,3 ±1,81 (48,3 ±1,13) (*)	41,7 ±2,02 (44,5 ±1,71)

* p<0,05

Из приведенной таблицы видно, что в ранние сроки после ожога и инъекции комплекса у животных, инъецированных соединением $C_{10}H_{14}CuO_4$, наблюдается достоверное понижение ВСК и уровня гематокрита, повышение количества лейкоцитов (эта тенденция сохраняется до

конца эксперимента). Наблюдается также достоверное понижение уровней тромбоцитов, эритроцитов и гемоглобина. Изменения цитогенетических показателей при чистом ожоге и при ожоге+ $C_{10}H_{14}CuO_4$ представлены в табл. 4.

Таблица 4

*Цитогенетические показатели при чистом ожоге и
при ожоге+ $C_{10}H_{14}CuO_4$*

Показатели	Интактные	Только ожог	Ожог +металлокомплекс (30 суток)
МИ в ‰	20,35±2,8	14,2±1,9	18,4±0,2 (*)
ХА в ‰	2,6±0,26	4,2±0,3	3,8±0,42
ПК в ‰	0,5±0,08	3,3±0,36	1,5±0,04 (*)

* $p < 0,05$

Исследование цитогенетических показателей выявило, что инъекция комплекса $C_{10}H_{14}CuO_4$ после ожога благотворно влияет на организм крыс (в частности при сравнении двух групп найдено достоверное различие показателей МИ и ПК). После проведения нескольких серий экспериментов можно утверждать о терапевтическом воздействии на ожог этого комплекса.

Таким образом, металлокомплекс $C_{10}H_{14}CuO_4$ оказался малотоксичным соединением: величина $LD_{50/7}$ составила 1815 мг/кг, что позволило использовать его после ожога и исследовать на терапевтический эффект. Изучение выживаемости, показателей крови и цитогенетических показателей подтвердило благотворное влияние металлокомплекса $C_{10}H_{14}CuO_4$.

Исследования показали, что в ранние сроки после ожога и инъекции животных соединением $C_{10}H_{14}CuO_4$ наблюдается достоверное понижение ВСК и уровня гематокрита, повышение количества лейкоцитов. Наблюдается также достоверное понижение уровней тромбоцитов, эритроцитов и гемоглобина. К концу эксперимента наблюдалась тенденция к нормализации гематологических показателей.

Приведена динамика выживаемости животных из группы ожог+ инъекции металлокомплекса с соответствующей регрессионной кривой и уравнением, позволяющим с помощью экстраполяции прогнозировать изменение процента выживаемости в отдаленные сроки эксперимента.

Процессы заживления ран, эпителизации, оволосения в группе «ожог+ $C_{10}H_{14}CuO_4$ » проходят интенсивнее, чем в группе чистого ожога, что говорит о благотворном влиянии данного металлокомплекса на обожженный организм.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНК РА в рамках научного проекта № 21Т-1F126.

Поступила 05.07.23

**C₁₀H₁₄CuO₄ մետաղական համալիրի ազդեցությունը III-AB
աստիճանի այրվածքներով կենդանիների ապրելունակության,
բջջազենետիկ և արյան ցուցանիշների վրա**

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

Ժամանակակից բժշկության առաջնահերթ խնդիրներից է այրվածքային վնասվածքների բուժմանը նպաստող նոր արդյունավետ միջոցների որոնումը: Այս ոլորտում առանձնահատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում պղնձի վրա հիմնված օրգանամետաղական համալիրները:

Աշխատանքի նպատակն է գնահատել C₁₀H₁₄CuO₄ մետաղական համալիրի հնարավոր օգտակար ազդեցությունը ջերմային այրվածքների վրա՝ որոշելով թունավորությունը, վերլուծելով ապրելունակությունը և որոշ բջջազենետիկ և արյան ցուցանիշներ:

C₁₀H₁₄CuO₄ մետաղական համալիրի վերլուծությունից պարզվեց, որ այն ցածր թունավոր միացություն է. LD_{50/7} արժեքը 1815 մգ/կգ է: Ապրելունակության, արյան ցուցանիշների հաշվարկի և բջջազենետիկ պարամետրերի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել C₁₀H₁₄CuO₄ մետաղական համալիրի բարենպաստ ազդեցությունը:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ C₁₀H₁₄CuO₄ միացությամբ ներարկված կենդանիների այրվածքից և կոմպլեքսի ներարկումից հետո վաղ փուլերում նկատվում են արյան մակարդման ժամանակի և հեմատոկրիտի մակարդակի զգալի նվազում, լեյկոցիտների քանակի աճ: Նկատվում է նաև թրոմբոցիտների, էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի մակարդակի զգալի նվազում: Փորձի ավարտին նկատվում էր արյունաբանական ցուցանիշների նորմալացման միտում:

Տրված է կենդանիների ապրելունակության դինամիկական «այրվածք + մետաղական համալիր» խմբից՝ համապատասխան ռեգրեսիոն կորով և հավասարումով, որը թույլ է տալիս օգտագործել էքստրապոլյացիա՝ կանխատեսելու փորձի երկարաժամկետ գոյատևման տոկոսի փոփոխությունը:

Այրվածք + C₁₀H₁₄CuO₄ խմբում վերքերի բուժման, էպիթելիացման, մազերի աճի գործընթացներն ավելի ինտենսիվ են, քան մաքուր այրվածքների խմբում, ինչը վկայում է այրված օրգանիզմի վրա այս մետաղական համալիրի բարերար ազդեցության մասին:

Influence of $C_{10}H_{14}CuO_4$ Metal Complex on Survival, Cytogenetic Parameters and Blood Parameters of Animals with III-AB Degree Burns

**A. G. Karapetyan, A. M. Dallakyan,
Zh. H. Petrosyan, V. S. Grigoryan**

One of the priority tasks of modern medicine is the search for new effective means that contribute to the treatment of burn injuries. In this area, organometallic complexes based on copper are of particular interest.

The aim of the work is to evaluate the possible beneficial effects of the $C_{10}H_{14}CuO_4$ metal complex on thermal burns by determining toxicity, analyzing survival rate and some cytogenetic and blood parameters.

The $C_{10}H_{14}CuO_4$ metal complex turned out to be a low-toxic compound: the $LD_{50/7}$ value was 1815 mg/kg. The study of survival rate, blood values and cytogenetic parameters showed a beneficial effect of the $C_{10}H_{14}CuO_4$ metal complex.

Studies have shown that in the early stages after the burn and injection of the complex in animals injected with the compound $C_{10}H_{14}CuO_4$, there is a significant decrease in blood clotting time and hematocrit level, an increase in the number of leukocytes. There is also a significant decrease in the levels of platelets, erythrocytes and hemoglobin. By the end of the experiment, there was a trend towards normalization of hematological parameters.

The dynamics of the survival rate of animals from the group "burn + injections of the metal complex" is presented, with the corresponding regression curve and an equation that allows, by extrapolation, to predict changes in the percentage of long-term survival of the experiment.

In the "burn + $C_{10}H_{14}CuO_4$ " group, the processes of wound healing, epithelialization, hair growth are more intense than in the pure burn group, which indicates the beneficial effect of this metal complex on the burned organism.

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.: Моделирование 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. Карапetyн 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. и др.* Клинико-цитогенетическое описание случая высокой инкорпорации радионуклида (24 года наблюдений). Радиобиология и радиэкология, 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.