

УДК 537.868; 616.361; 617.001

М. Г. Малакян, В. А. Бадирян, С. А. Баджинян, Г. А. Геворгян

### Экспериментальное исследование терапевтической активности соединения № 632276 при термических повреждениях

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 28/IV 2004)

Генерализованное повреждение клеточных и внутриклеточных мембран при термических ожогах является универсальным механизмом развития каскада патологических процессов в организме [1,2]. В момент термического воздействия на кожу происходит разрушение и повреждение огромного количества клеток с освобождением и ферментативным образованием массы различных биологически активных веществ, которые в настоящее время получили название медиаторов воспаления [3].

Увеличению содержания указанных агентов способствует также болевой стресс, сопровождающийся адренергической активацией и гиперсекрецией катехоламинов, оказывающих непосредственное разрушающее действие на клеточные мембраны. Существенный вклад в развитие дальнейшего поражения организма имеют свободнорадикальные продукты реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4,5].

Установлено, что при обширных и глубоких ожогах в организме происходит новообразование или накопление ряда соединений пептидной и липидной природы, имеющих среднемолекулярную массу (СМ) в пределах 300-5000 дальтон, обладающих высокой функциональной активностью, являющихся показателем степени эндогенной интоксикации организма и во многом определяющих развитие патогенетически значимых синдромов ожоговой болезни и исход заболевания [6,7].

Комплекс лечебных мероприятий, проводимый при ожоговых поражениях, является многокомпонентным и направлен на обеспечение благоприятных условий для максимального восстановления утраченных функций, предупреждения или коррекции возникающих осложнений. В общей схеме лечения термических повреждений большое значение имеют устранение болевого синдрома и гемодинамических расстройств, детоксикационные мероприятия, органопротекция, антибактериальная, противовоспалительная и антиоксидантная терапия.

Синтезированное в институте тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН Армении соединение № 632276, принадлежащее ряду  $\beta$ -аминокетонов, обладает низкой токсичностью ( $LD_{50}=1500$  мг/кг), выраженными местноанестезирующими, анальгезирующими, противовоспалительными, антибактериальными и мембраностабилизирующими свойствами [8-11]. Наличие вышеуказанных свойств у данного соединения предполагает потенциальную его эффективность при применении в качестве терапевтического средства при ожоговых поражениях организма.

С целью изучения активности соединения № 632276 при термических повреждениях были

проведены экспериментальные исследования на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Ожоговая травма III А-Б степени производилась контактным способом в области спины животных с площадью 16% от общей поверхности тела [12]. Через 0,5, 24 и 48 ч после нанесения ожоговой травмы животным опытной группы "Ож+Леч" внутривенно вводили водные растворы соединения № 632276 в дозе 20 мг/кг (10 крыс). Животные первой контрольной группы "Ож" после травмы не получали какого-либо лечения (10 крыс). Контрольную группу "Норма" составляли интактные животные (10 крыс).

На 7 и 14 сутки послеожогового периода у животных указанных экспериментальных групп определяли следующие показатели: содержание молекул средней молекулярной массы в плазме крови - по величине оптического поглощения опытных образцов при длине волны 264 нм [13]; состояние активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитарных мембранах - по содержанию в пробе конечного продукта реакций липидной пероксидации - малонового диальдегида (МДА) [14]; проницаемость мембран эритроцитов для ионов калия - по результатам нарастания концентрации  $K^+$  в изотонической среде NaCl в течение 1 ч инкубации эритроцитов при 37<sup>0</sup> С [15]; мембранный потенциал эритроцитов - по равновесному распределению ионов водорода между внутренней и внешней средой клеток [16]. Последние два показателя характеризовали состояние функциональной активности мембран эритроцитов. Об эффективности терапевтического вмешательства судили на основе сравнительного анализа изучаемых показателей у животных указанных экспериментальных групп. Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе вычисления среднеарифметического значения и стандартной ошибки. Данные считались достоверными при  $P < 0.05$ .

Таблица 1

**Уровень МДА в эритроцитах и содержание молекул средней молекулярной массы в плазме крови животных на 7 и 14 сутки после ожога**

Группа исследования	Активность ПОЛ в эритроцитах Норма: 97.64±1.22 нмольМДА/мл эр. n=10		СМ в плазме крови ( $A_{264}$ ) Норма: 0.20±0.01 у.е n=10	
	7 сутки	14 сутки	7 сутки	14 сутки
Контрольная «Ож»	122.26±2.19 P<0.001 n=5	103.57±4.11 P>0.05 n=5	0.30±0.03 P<0.01 n=5	0.28±0.02 P<0.01 n=5
Опытная «Ож+Леч»	94.27±1.62 P>0.05 P <sup>1</sup> <0.001 n=5	84.11±3.20 P<0.01 P <sup>1</sup> <0.001 n=5	0.26±0.03 P>0.05 P <sup>1</sup> >0.05 n=5	0.24±0.01 P<0.02 P <sup>1</sup> <0.02 n=5

Примечание: P - достоверность по сравнению с нормой; P<sup>1</sup> - достоверность по сравнению с контролем того же дня

Согласно табл. 1 на 7 сутки после получения ожоговой травмы у нелеченых животных отмечалось статистически достоверное повышение интенсивности ПОЛ в эритроцитах, тогда как у животных опытной группы наблюдаемые изменения недостоверно отличались от нормы, однако были достоверно низкими по сравнению с показателями контрольной группы. На 14 сутки параллельно с протекающими в организме репарационными процессами наблюдалась

регуляция активности процессов ПОЛ, что отразилось в снижении уровня МДА в мембранах эритроцитов у животных обеих экспериментальных групп. Однако у животных группы "Ож+Леч" величина данного показателя была достоверно ниже по сравнению как с нормой, так и с контролем.

Анализ содержания молекул средней молекулярной массы в плазме крови показал достоверно высокий уровень СМ у животных контрольной группы на 7 и 14 сутки после ожогового повреждения. В опытной группе на 7 сутки величина данного показателя была выше нормы, но ниже контроля, однако эти изменения не имели достоверного характера. Полученные же на 14 сутки данные выявили достоверно более высокое, чем в норме, но меньшее по сравнению с контролем значение изучаемого показателя у животных этой группы.

Таблица 2

**Проницаемость мембран эритроцитов для ионов  $K^+$  и мембранный потенциал эритроцитов животных на 7 и 14 сутки после ожога**

Группа исследования	Проницаемость $K^+$ Норма: $(1.30 \pm 0.12) \times 10^{-9}$ см/с n=10		Мембранный потенциал эритроцитов Норма: $- 8.73 \pm 0.85$ мВ n=10	
	7 сутки	14 сутки	7 сутки	14 сутки
Контрольная «Ож»	$(2.13 \pm 0.14) \times 10^{-9}$ P<0.001 n=5	$(1.90 \pm 0.02) \times 10^{-9}$ P<0.002 N=5	$- 12.90 \pm 0.38$ P<0.001 n=5	$- 8.41 \pm 0.95$ P>0.05 n=5
Опытная «Ож+Леч»	$(1.57 \pm 0.02) \times 10^{-9}$ P<0.05 P <sup>1</sup> <0.001 n=5	$(1.37 \pm 0.22) \times 10^{-9}$ P>0.05 P <sup>1</sup> <0.02 N=5	$- 7.54 \pm 0.01$ P>0.05 P <sup>1</sup> <0.001 n=5	$- 8.89 \pm 0.84$ P>0.05 P <sup>1</sup> >0.05 n=5

*Примечание:* P - достоверность по сравнению с нормой; P<sup>1</sup> - достоверность по сравнению с контролем того же дня

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что на 7 сутки после ожогового поражения существенным образом были изменены функциональные показатели состояния эритроцитарных мембран, такие как ионная проницаемость и мембранный потенциал. Однако изменения по сравнению с нормой были несколько слабее выражены у животных, получивших соединение № 632276. На 14 сутки у нелеченых животных  $K^+$ -проницаемость эритроцитарных мембран продолжала оставаться высокой, тогда как в опытной группе полностью восстанавливалась, что свидетельствует о протекторном действии изучаемого вещества на мембраны эритроцитов при термических повреждениях организма.

Данные, полученные по мембранному потенциалу эритроцитов, показали выраженные отклонения от нормы у контрольных животных на 7 сутки. К 14 суткам в обеих экспериментальных группах величина мембранного потенциала эритроцитов была в пределах нормы.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что на фоне трехкратного введения соединения № 632276 в организм животных, получивших экспериментальную ожоговую травму, наблюдается снижение активности катаболических процессов, вызванных термическим фактором, корректируются структурно-функциональные свойства мембран эритроцитов. Следует полагать, что обнаруженные эффекты тесно взаимосвязаны с

установленными ранее местноанестезирующими, анальгетическими и противовоспалительными свойствами этого соединения, способствующими ограничению выраженности стресс-синдрома и сопутствующих его метаболических нарушений. Регуляция интенсивности свободно-радикальных реакций перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов и коррекция функционального состояния эритроцитарных мембран под влиянием изучаемого соединения могут являться одним из существенных моментов в механизме терапевтического действия соединения № 632276 и иметь важное значение в проявлении общей реакции организма на травму в рамках адаптивной реакции.

Центр травматологии, ортопедии, ожогов и радиологии МЗ РА  
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН РА

### Литература

1. Заец Т. Л., Сологуб В. К., Никулин В. И., Лавров В. А. - Бюлл. экспер. биологии. 1987. №4. С. 403-404.
2. Latha B., Mary Baby - Burns. 2001. V. 27. P. 309-317.
3. Willams T. J., Jose P. J. - J. Exp Med. 1981. V. 153. P. 136.
4. Saez J., Ward P., Ganther B, Vivaldi E. - Circ. Shock. 1984. V. 12. P. 229-239.
5. Till G. O., Hatherill J. R., Tourtellotte W. W. - Am. J. Pathol. 1985. V. 119. P. 376.
6. Волчегорский И. А., Лившиц Р. И., Вальдман Б. М., Пужевский А. С. - Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1994. № 4. С. 23-29.
7. Вальдман Б. М., Волчегорский И. А., Пужевский А. С. В кн.: Современные проблемы патогенеза и клиники. Ожоговая токсемия. Под. ред. Р. И. Лифшица. 1986. Челябинск. С. 6-19.
8. Дургарян Л. К. Исследования местноанестезирующих свойств  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -аминокетонов Канд. дисс. М. 1984.
9. Мнджоян О. Л., Геворгян Г. А., Габриелян С. А., Апоян Н. А., Подольская Л. П., Чилингарян Д. Г. Авторское свидетельство СССР 722097(1979).
10. Мнджоян О. Л., Геворгян Г. А., Габриелян С. А., Апоян Н. А., Подольская Л. П. Авторское свидетельство СССР 869271(1980).
11. Мнджоян О. Л., Геворгян Г. А., Габриелян С. А., Власенко Э. В., Дургарян Л. К. Заявка на получение авторского свидетельства (по применению) № 2904189 от 06.05.1980.
12. Гублер Е. В., Хребтович В. И., Суббота А. Г. В сб.: Термические ожоги и ожоговая болезнь. М. Медицина. 1973. С. 350.
13. Ковалевский А. Н., Нифантьев О. Е. - Лаб. дело. 1989. № 10. С. 35-38.
14. Бенисович Ю. В., Идельсон Л. И. - Вопр. мед. химии. 1973. Т. 19. № 6. С. 596.
15. Баджинян С. А., Казарян П. А., Акопов С. Э., Саарян А. В. - Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып. 3. С. 364-369.
16. Macey R. I., Adorante J. S., Orme F. W. - Biochem. Biophys. Acta. 1978. V. 512. P. 284-295.

Մ. Հ. Մալաքյան, Վ. Ա. Բաղիրյան, Ս. Ա. Բաջինյան, Գ. Ա. Գևորգյան

**Ջերմային վնասվածքների դեպքում թիվ 632276 միացության բուժիչ ակտիվության  
փորձարարական հետազոտությունը**

Կենդանիների վրա կատարված փորձարկումները ցույց են տվել, որ այրվածքային վնասվածքների դեպքում  $\beta$ -ամինակետոնների շարքին պատկանող թիվ 632276 միացությունը կարգավորում է միջին մոլեկուլային զանգվածով մոլեկուլների պարունակությունը արյան պլազմայում, էրիթրոցիտների թաղանթային պոտենցիալը,  $K^+$  - թափանցելիությունը, լիպիդների գերօքսիդացման ակտիվությունը էրիթրոցիտների թաղանթներում: Ստացված տվյալները հիմք են տալիս ենթադրելու, որ այդ հասկությունները կարող են որոշակի դեր խաղալ ջերմային վնասվածքների ժամանակ հետազոտվող նյութի արդյունավետության դրսևորման գործում: