

Выбор оптимальной дозы антиоксиданта «Мексibel» для лечения гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области на основании данных экспериментальных исследований

Цель исследования - экспериментальным путем определить оптимальную схему назначения препарата «Мексibel» при лечении гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области. Исследование выполнено на 32 кроликах, которые разделены на 4 серии: Животные были разделены на 4 серии: контрольная - с моделью подчелюстного абсцесса (n=8); опытная серия 1 - с подчелюстным абсцессом, в лечении которых был использован «Мексibel» по схеме 1 в дозировке 9 мг/кг 2 раза в сутки (n=8); опытная серия 2, в лечении которых был использован «Мексibel» по схеме 2 в дозировке 6 мг/кг 2 раза в сутки (n=8); опытная серия 3, в лечении которых был использован «Мексibel» по схеме 3 в дозировке 3 мг/кг 2 раза в сутки (n=8). В сыворотке крови определяли перекисное окисление липидов, антиоксидантную активность, содержание диеновых конъюгатов. Было определено, что для применения препарата «Мексibel» в клинике при лечении пациентов с гнойно-воспалительными процессами челюстно-лицевой области оптимально использовать дозировку эквивалентную 6 мг/кг 2 раза в сутки для кролика.

Ключевые слова: антиоксидант, перекисное окисление липидов, оптимальная доза.

Введение. Гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области остаются весьма актуальной проблемой, несмотря на успехи, достигнутые в диагностике и лечении данной патологии [7]. В последние годы уделяется большое внимание определению роли свободнорадикального окисления в норме и при патологических состояниях, определению места антиоксидантов в коррекции и регуляции свободнорадикального окисления (СРО). Дисбаланс в системе СРО и антиоксидантной защиты характерен для окислительного стресса, являющегося важным патогенетическим фактором развития заболеваний [8]. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о противоотечном и выраженном противовоспалительном эффекте антиоксидантов. Их применение способствует улучшению процессов микроциркуляции и регенерации ран. Положительный терапевтический эффект применения комплекса антиоксидантных препаратов является дополнительным подтверждением патогенетической роли компонентов АОС в развитии гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области [6]. Экспериментальными и клиническими исследованиями подтверждены антигипоксическое, антиоксидантное, дезинтоксикационное и радиопротекторное свойства янтарной кислоты и ее производных [2]. Препарат «Мексibel» на основе янтарной кислоты обладает выраженным антиоксидантным, антигипоксическим, липидрегулирующим и мембранопротекторным действием. Он повышает антиоксидантную активность ферментов, уменьшает вязкость липидного слоя, влияет на содержание биогенных аминов, катехоламинов и энергетический обмен клетки [3].

Однако эффективность препарата «Мексибел» в лечении гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и его оптимальная схема назначения до настоящего времени изучены не были.

Цель исследования – экспериментальным путем определить оптимальную схему назначения препарата «Мексибел» при лечении гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области.

Объекты и методы. Эксперимент выполнен на 32 кроликах породы Шиншилла обоего пола, массой 3000-3500 г. Исследования проводились в соответствии с требованиями к научному эксперименту с использованием животных [4].

Животные были разделены на 4 серии: контрольная - с моделью подчелюстного абсцесса (n=8); опытная серия 1 - с подчелюстным абсцессом, в лечении которых был использован «Мексибел» по схеме 1 в дозировке 9 мг/кг 2 раза в сутки (n=8); опытная серия 2, в лечении которых был использован «Мексибел» по схеме 2 в дозировке 6 мг/кг 2 раза в сутки (n=8); опытная серия 3, в лечении которых был использован «Мексибел» по схеме 3 в дозировке 3 мг/кг 2 раза в сутки (n=8).

Препарат «Мексибел» вводился внутримышечно.

В качестве модели гнойно-воспалительного процесса использовался подчелюстной абсцесс кролика, получение которого было отработано на 10 экспериментальных животных.

Подчелюстной абсцесс у кроликов формировался через неделю и имел классические признаки воспаления. В подчелюстной области имелся ограниченный инфильтрат, в центре которого определялась флюктуация. Кроме того, выявлялась местная гипертермия очага воспаления, животные остро реагировали на пальпацию подчелюстной области, отказывались от приема пищи, имели учащенное дыхание.

Всем животным после получения модели проводили первичную хирургическую обработку (ПХО) гнойного очага под инфильтрационной анестезией 1 мл 0,25% раствора новокаина. Ежедневно до исчезновения признаков местного воспаления выполняли перевязки с обработкой раны антисептиками и сменой резиновых дренажей. Животных с подчелюстным абсцессом по завершению срока наблюдения выводили из эксперимента путем передозировки нембутала.

Для биохимических исследований у наблюдаемых кроликов проводили забор крови из краевой вены уха. У животных контрольной и опытной серий 5 проб: проба 1- в день проведения ПХО гнойного очага; проба 2 – на 2-е сутки; проба 3 – на 4-е сутки, проба 4 – на 7-е сутки, проба 5 – на 11 сутки лечения.

В сыворотке крови животных с помощью биохемилюминометра БХЛ-06 определяли перекисное окисление липидов (ПОЛ) и антиоксидантную активность (АОА) методом индуцированной хемилюминесценции в реакции Фентона [1]. Регистрировали максимальную интенсивность свечения (I_{max} , мВ), пропорциональную уровню ПОЛ, светосумму (S, мВ·сек) свечения, обратно пропорциональную антиоксидантной активности (АОА) и $tg \alpha_2$ (тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности, характеризующий скорость снижения свободнорадикальных процессов). Кроме того, в сыворотке крови определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) по методике В.Б. Гаврилова [5].

Полученные результаты обрабатывали при помощи электронных таблиц Statistica 6.0 и «Excel». Перед использованием методов описательной статистики определяли тип распределения количественных признаков с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для признаков с нормальным распределением рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартное отклонение (σ). При распределении признака, отличном от нормального, вычисляли медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й квантили (UQ). Оценку статистической значимости различий проводили с учетом распределения признака при помощи критерия Стьюдента (t) и критерия Манна-Уитни (U). Критический уровень значимости определяли как 0,05.

Результаты. При сравнении показателей активности ПОЛ, АОС, содержания ДК между опытными сериями и контролем выявлен ряд положительных изменений у животных, получающих «Мексibel», в процессе лечения препаратом. В первый день развития абсцесса статистически значимых отличий биохимических показателей сыворотки крови между контрольной и опытными сериями животных выявлено не было, что свидетельствует об однородности сравниваемых серий.

На 2-е сутки применения антиоксиданта в опытной серии 1 активность процессов ПОЛ (I_{max2}) была ниже, чем в контроле: $1,26 \pm 0,12$ мВ и $1,54 \pm 0,1$ мВ соответственно, $p=0,0001$, $p<0,001$ (табл. 1). Активность реакций СРО в опытной серии кроликов 1 оставалась более низкой на протяжении всего периода лечения: на 4-е сутки $U=0,00$, $p=0,001$, $p<0,01$; на 7-е сутки $p=0,004$, $p<0,01$; на 11-е сутки $p=0,0004$, $p<0,001$.

Активность АОС была выше в опытной серии 1 относительно контроля, начиная со вторых суток: $S_2 = 12,97 \pm 1,03$ мВ·сек в опытной серии и $S_2 = 15,36$ (14,1;15,58) мВ·сек в контрольной, $U=9$, $p=0,01$, $p<0,05$. На 4-е, 7-е, 11-е сутки введения препарата ситуация оставалась аналогичной: 4-е сутки $p=0,003$, $p<0,01$; 7-е сутки $p=0,004$, $p<0,01$; 11-е сутки $p=0,0001$, $p<0,001$.

Скорость снижения активности ПОЛ в серии животных, получающих «Мексibel» в дозе 9 мг/кг, была выше на 2-е сутки ($p=0,008$, $p<0,01$), на 4-е сутки ($U=2,5$, $p=0,003$, $p<0,01$) и на 11-е сутки лечения ($U=0,00$, $p=0,001$, $p<0,01$) относительно контроля.

На 2-е сутки лечения препаратом «Мексibel» кроликов опытной серии 2 также были выявлены отличия от контроля (табл. 2). Активность реакции СРО была выше в контрольной серии животных ($1,54 \pm 0,1$ мВ) относительно данных серии 2 ($1,32 \pm 0,13$ мВ), $p=0,002$, $p<0,01$. В тоже время активность АОС была выше у кроликов серии 2 ($12,93 \pm 1,26$ мВ·сек) по сравнению с контролем ($15,36$ (14,1;15,58) мВ·сек), $U=7$, $p=0,008$, $p<0,01$. Скорость снижения активности процессов перекисного окисления у кроликов, получающих «Мексibel» по схеме 2, была выше, чем у кроликов, не получающих указанный препарат: $tg_2 = -0,28$ (0,04) и $tg_2 = -0,33$ (0,04), $p=0,04$, $p<0,05$.

На 4-е сутки эксперимента (проба 3) наблюдались аналогичные различия между показателями активности ПОЛ и АОС. Так, у кроликов контрольной серии показатель $I_{max3} = 1,42$ (1,39;1,51) мВ, у кроликов опытной серии 2 $I_{max3} = 1,25 \pm 0,16$ мВ, $U=11,5$, $p=0,03$, $p<0,05$. Показатель светосуммы в

контрольной серии $S_3=14,82\pm 1,69$ мВ·сек, в серии 2 $S_3=12,57\pm 0,86$ мВ·сек, $p=0,004$.

На 7-е сутки (проба 4) были выявлены статистически значимые отличия между аналогичными показателями, что и в предыдущие дни: $p(S_4)=0,0005$, $p<0,001$; $p(I_{\max 4})=0,01$, $p<0,05$. Содержание ДК в сыворотке крови кроликов было различным: $549,79\pm 328,81$ нМ/мл в контрольной серии и $231,11\pm 210,01$ нМ/мл в опытной серии 2, $p=0,04$, $p<0,05$.

В конце эксперимента на 11-е сутки лечения (проба 5) выявлено статистически значимое снижение активности реакций СРО: $p=0,0001$, $p<0,001$, при $I_{\max 5}$ в контроле $1,36\pm 0,07$ мВ и при $I_{\max 5}$ в опытной серии 2 - $1,09\pm 0,19$ мВ.

Показатель светосуммы в контроле был выше ($S=14,17\pm 0,69$ мВ·сек), чем в опытной серии 2 ($11,12\pm 1,27$ мВ·сек), $p=0,0001$, $p<0,001$, что указывает на более низкую активность АОС у животных, не получающих «Мексibel». Скорость падения активности реакций СРО ($tg2$) у кроликов, получающих «Мексibel» по схеме 2, выше, чем в контрольной серии: $-0,22\pm 0,06$ и $-0,28\pm 0,03$, $p=0,03$, $p<0,05$. Содержание ДК в сыворотке крови у животных опытной серии 2 ниже ($52,79\pm 25,58$ нМ/мл), чем в контроле ($231,44$ ($135,7; 320,96$) нМ/мл), $U=0,000$, $p=0,001$, $p=0,01$.

На 2-е сутки лечения в опытной серии 3 активность ПОЛ была ниже, чем в контроле, соответственно $I_{\max 2}=1,33\pm 0,08$ мВ и $I_{\max 2}=1,54\pm 0,1$ мВ, $p=0,0004$, $p<0,001$ (табл. 2). Активность АОС в контрольной серии ($S=15,36(14,1; 15,58)$ мВ·сек) была ниже по сравнению с серией животных, получавших «Мексibel» по схеме 3 ($S=13,1\pm 0,49$ мВ·сек), $U=10$, $p=0,02$, $p<0,05$. Скорость падения активности ПОЛ у животных в опытной серии 3 была выше, чем контрольной: $tg2 2=-0,28\pm 0,04$ и $tg2 2=-0,33\pm 0,04$, $p=0,03$, $p<0,05$.

На 4-е сутки лечения активность ПОЛ в опытной серии 3 ($I_{\max 3}=1,33\pm 0,08$ мВ) была так же, как и на 2-е сутки, ниже относительно контроля ($I_{\max 3}=1,42(1,39; 1,51)$ мВ), $U=4,5$, $p=0,006$, $p<0,01$. А активность АОС в опытной серии 3 была выше, чем в контроле: соответственно $S_3=13,0\pm 0,94$ мВ·сек и $S_3=14,82\pm 1,69$ мВ·сек, $p=0,02$.

На 7-е сутки лечения статистически значимые отличия между сравниваемыми сериями выявлены в содержании ДК в сыворотке крови. Так, в опытной серии 3 данный показатель составил $163,91$ ($107,02; 334,28$) нМ/мл, тогда как в контроле – $549,79\pm 328,84$ нМ/мл, $U=9$, $p=0,02$, $p<0,05$.

На 11-е сутки лечения выявлен различный уровень активности АОС. В опытной серии 3 $S_5=12,9\pm 1,24$ мВ·сек, а в контроле $S_5=14,17\pm 0,69$ нМ/мл, что указывает на более высокий уровень АОА в опытной серии животных, получающих «Мексibel» по схеме 3 по сравнению с контролем.

Полученные результаты сравнения показателей сыворотки крови контрольной и опытных серий 1,2,3 представлены в виде графиков (рисунок 1, 2, 3, 4).

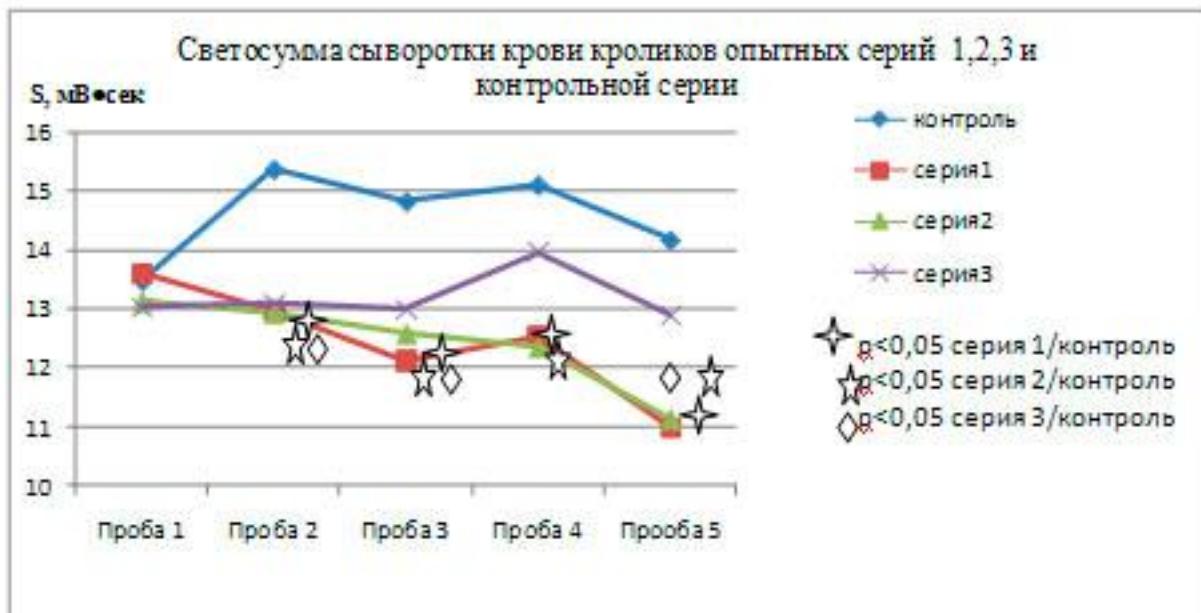


Рисунок 1. Показатель, обратно пропорциональный АОА (S), сыворотки крови кроликов опытных серий 1, 2, 3 и контрольной серии.

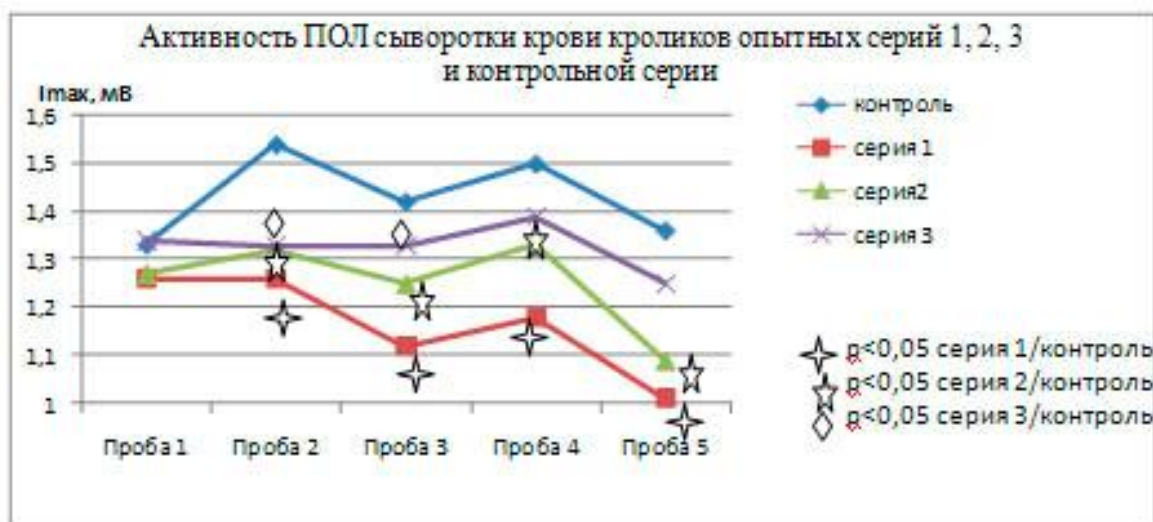


Рисунок 2. Активность ПОЛ сыворотки крови кроликов опытных серий 1, 2, 3 и контрольной серии.

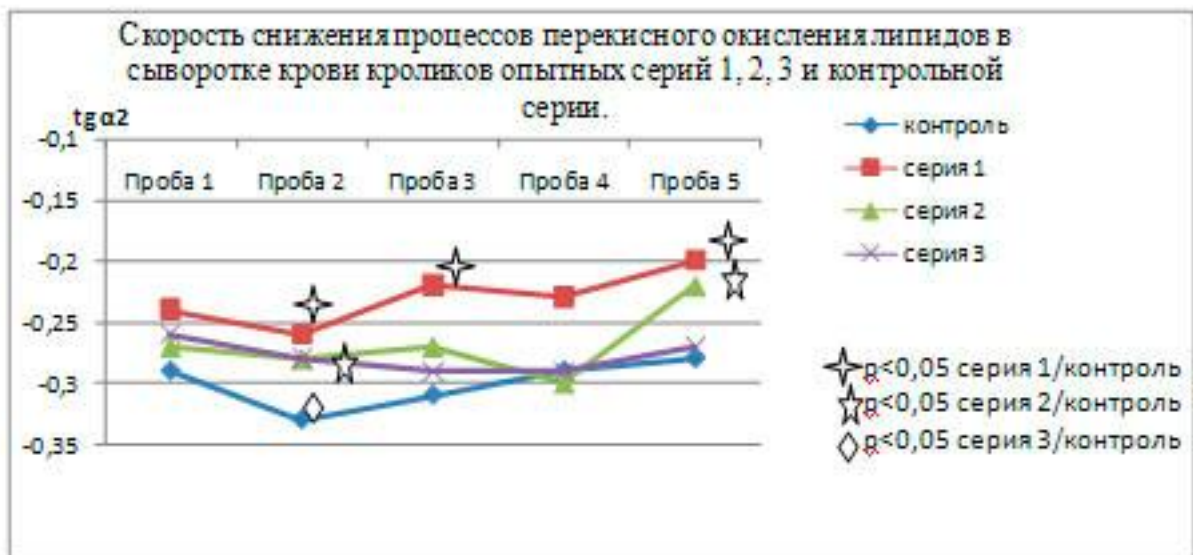


Рисунок 3. Скорость снижения процессов перекисного окисления липидов в сыворотке крови кроликов опытных серий 1,2,3 и контрольной серии

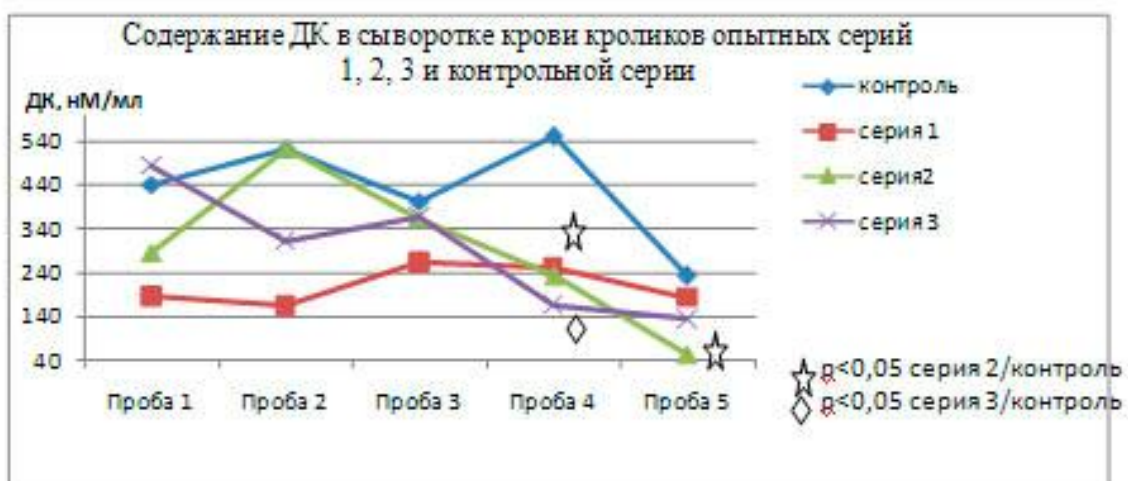


Рисунок 4. Содержание ДК в сыворотке крови кроликов опытных серий 1, 2, 3 и контрольной серии.

При сравнении опытных серий экспериментальных животных, получающих препарат «Мексигел» по схеме 3 и схеме 2, выявлено, что активность АОС на 7-е сутки исследования в серии 3 ниже ($S_4=13,96\pm 1,28$ мВ·сек), чем в серии 2 ($S_4=12,34\pm 0,83$ мВ·сек), $p=0,01$, $p<0,05$. Аналогичные различия выявлены в конце лечения (11-е сутки) (табл. 1). Показатель светосуммы в серии 3 равен $S_5=12,9\pm 1,24$ мВ·сек и выше, чем в

Таблица 1

Результаты сравнения показателей ПОЛ и АОА, содержания ДК в сыворотке крови между опытными группами кроликов серии 2 и серии 3

Результаты сравнения с использованием t-критерия:			
Сравниваемые показатели (серия 2/серия 3)	Значение p	p<	
S4	0,01	0,05	
S5	0,02	0,05	
Результаты сравнения с использованием критерия Манна-Уитни:			
Сравниваемые показатели (серия 3/серия 2)	Значение U	Значение p	p<
I _{max} 5	2	0,004	0,01

серии 2 S5=11,12±1,27 мВ·сек, что указывает на более высокий уровень АОС в опытной серии животных 2. Кроме того, на 11-е сутки заболевания в серии кроликов 2 был зарегистрирован более низкий уровень активности ПОЛ относительно серии 3: соответственно I_{max} 5 =1,09±0,19 мВ и I_{max} 5 =1,25 (1,23;1,3) мВ, U=2, p=0,004, p<0,01.

При сравнении показателей активности ПОЛ и АОС между опытными сериями 3 и 1 выявлен ряд отличий (табл. 2). Так, на 4-е сутки введения препарата активность ПОЛ в опытной серии 1 составила I_{max} 3=1,12±0,06 мВ, что было ниже, чем в опытной серии 3 - I_{max} 3=1,33±0,05 мВ, p=0,00004, p<0,001.

Скорость убыли активности процессов СРО была выше в серии 1, чем в серии 3: tg2 3=-0,22 (-0,26;-0,22) и tg2 3=-0,29±0,03, U=4, p=0,005, p<0,01.

На 7-е сутки лечения выявлен статистически значимо более высокий уровень активности ПОЛ в опытной серии 3 (I_{max} 4=1,39±0,14 мВ) относительно серии 1 (1,18±0,21 мВ), p=0,04, p<0,05.

На 11-е сутки лечения активность ПОЛ в серии 1 составляет I_{max} 5=1,01±0,17 мВ, что ниже, чем в серии 3 - I_{max} 5=1,25 (1,23;1,3) мВ, U=1,5, p=0,003, p<0,01.

Уровень активности АОС выше в серии 1 относительно серии 3: соответственно S5=10,99±1,35 мВ·сек и S5=12,09±1,24 мВ·сек, p=0,01, p<0,05. Скорость снижения активности ПОЛ в серии 1 (tg2 5=-0,2 (-0,22;-0,2)) выше, чем серии 3 (tg2 5=-0,27±0,03), U=5,5, p=0,01, p<0,05.

Таблица 2

Результаты сравнения показателей ПОЛ и АОА, содержания ДК в сыворотке крови между опытными группами кроликов серии 1 и серии 3

Результаты сравнения с использованием t-критерия:			
Сравниваемые показатели (серия 3/серия 1)	Значение p	p<	
I _{max} 3	0,00004	0,001	
I _{max} 4	0,04	0,05	
S5	0,01	0,05	
Результаты сравнения с использованием критерия Манна-Уитни:			
Сравниваемые показатели (серия 3/серия 1)	Значение U	Значение p	p<
tg2 3	4	0,005	0,01

I_{max} 5	1,5	0,003	0,01
$tg2$ 5	5,5	0,01	0,05

При сравнении показателей активности ПОЛ (I_{max}), активности АОС (S), скорости элиминации процессов СРО ($tg2$) в сыворотке крови экспериментальных животных между опытной серией 2 и опытной серией 1 статистически значимых отличий на протяжении введения препарата выявлено не было, что говорит об отсутствии значимых различий в эффективности препарата «Мексibel» при назначении его по 9 мг/кг 2 раз в сутки и по 6 мг/кг 2 раза в сутки.

Выводы. На основании полученных результатов можно заключить следующее.

1. В опытных сериях животных, получавших препарат «Мексibel», выявлено повышение активности АОС, снижение активности ПОЛ в сыворотке крови относительно контроля уже со вторых суток его применения. Это свидетельствует об эффективности антиоксиданта «Мексibel» при назначении его кроликам с гнойно-воспалительным процессом.
2. При назначении препарата «Мексibel» в дозировке 9 мг/кг (схема 1) и 6 мг/кг (схема 2) по 2 раза в сутки у опытных животных серии 1 и серии 2 наблюдается снижение активности ПОЛ, повышение АОА и скорости стихания реакция СРО в крови к завершению введения препарата, что свидетельствует о наличии эффекта при использовании изучаемого антиоксиданта в данных дозировках. В опытной серии 3 положительные изменения исследуемых показателей в конце лечения относительно данных первого дня отсутствуют, что указывает на недостаточную эффективность препарата «Мексibel» в дозировке 3 мг/кг 2 раза в сутки.
3. При сравнении опытных серий между собой выявлена большая эффективность препарата «Мексibel» при назначении его по 9 мг/кг 2 раз в сутки (схема 1) и по 6 мг/кг 2 раза в сутки (схема 2) относительно третьей схемы введения – по 3 мг/кг 2 раза в сутки. При этом статистически значимых отличий в эффективности изучаемого препарата при введении его по схеме 1 и схеме 2 не выявлено.
4. С учетом ожидаемой экономической эффективности и отсутствием статистически значимых отличий между результатами применения препарата «Мексibel» по 9 мг/кг 2 раз в сутки (схема 1) и по 6 мг/кг 2 раза в сутки (схема 2), для дальнейшего изучения и применения данного лекарственного средства в лечении пациентов с гнойно-воспалительными процессами челюстно-лицевой области оптимально использовать дозировку для человека, эквивалентную 6 мг/кг 2 раза в сутки для кролика.

Литература

1. Абрамова, Ж. И. Человек и противокислительные вещества / Ж. И. Абрамова, Г. И. Оксегендлер. Л.: Наука, 1985. 230 с.
2. Антиоксиданты и фотодинамическая терапия в комплексном лечении ран / Э.В. Луцевич [и др.]. // Материалы III конгресса АХП. – М., 2001. - С. 181.

3. Воронина, Т. А. Отечественный препарат нового поколения мексидол, основные эффекты, механизм действия, применение / Т. А. Воронина. М.: Изд-во НИИ Фармакологии РАМН, 2003. 20 с.
4. Денисов, С. Д. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // Здоровоохранение. 2001. № 4. С. 40–42.
5. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропильных экстрактов / В. Б. Гаврилов и [др.]. // Лаб. дело. 1988. № 2. С. 60–64.
6. Ксембаев, С. С. Острые одонтогенные воспалительные заболевания челюстей. Диагностика и лечение ангио- и остеогенных нарушений / С. С. Ксембаев, И. Г. Ямашев. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 128 с.
7. Соловьев, М. М. Абсцессы и флегмоны головы и шеи / М. М. Соловьев, О. П. Большаков. М.: Медпресс, 2001. 230 с.
8. Harman, D. Free radicals and the organization, evolution, and present status of the free radical theory of aging / D. Harman // Free radical in molecular biology, aging and disease. New York: Raven Press, 1984. P. 1–12.