

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КСИМЕДОНА В КАЧЕСТВЕ АНТИОКСИДАНТА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ

К.В. Малышев

*Кафедра общей хирургии (зав. — доц. В.Ю. Терещенко)
Казанского государственного медицинского университета*

Лечение хронического остеомиелита (ХО), несмотря на достигнутые успехи, в медицинской практике остается сложным и недостаточно эффективным. По разным данным [4], у 13—65,7% пациентов возникают рецидивы заблечения, требующие длительного лечения и многократного проведения хирургических вмешательств.

Причиной многих нарушений при ряде хронических воспалительных заболеваний выступает усиление генерации свободных радикалов [1, 5, 7]. Усиленное образование активных форм кислорода (АФК), продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и других маркеров, характеризующих нарушение про- и антиоксидантного балланса организма у больных ХО, отмечено неоднократно [1, 3, 5]. По мнению ряда авторов [4, 8], эта ситуация может измениться только при разработке новых патогенетически целесообразных приемов лечения заболеваний.

Известно [7, 9], что повреждение клеток кислородными радикалами и перекисью водорода предупреждают антиоксиданты с разнообразным механизмом действия. Будучи своеобразными ловушками АФК, антиоксиданты в то же время стимулируют процессы репаративной регенерации кости. В связи с этим заслуживает внимание использование в качестве корректора окислительно-восстановительных систем у больных ХО нового препарата ксимедона.

Ксимедон является лекарственным препаратом пиримидинового ряда, нормализующим энергетический, азотный и некоторые другие виды обмена. Препарат восстанавливает повреждения генома у подопытных животных и больных [6]. Вместе с тем особенности мета-

болизма ксимедона (в частности наличие промежуточных продуктов, обладающих антиоксидантной активностью — АОА), позволяют предположить у него наличие АОА. Исходя из этого цель нашей работы заключалась в экспериментальном изучении про- и антиоксидантных свойств ксимедона в химических, ферментативных и клеточных модельных системах, разработке схемы его использования в клинике как антиоксиданта и в анализе эффективности его клинического применения.

Ксимедон производства “Татхим-фармпрепараты” использовали в таблетированной форме. В качестве препарата сравнения был взят метилурацил (“Бел-витамины”), широко применяемые в терапии гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе и ХО.

Экспериментальную часть исследований проводили на химических, ферментативных и клеточных системах в реакциях с образованием основных АФК: синглетного кислорода в системе NaClO и H_2O_2 [2], супероксида — при аутоокислении адреналина [10], гидроксильного анион-радикала в реакции FeSO_4 и H_2O_2 (реактив Фентона) [9].

Образование АФК и влияние на этот процесс исследуемых препаратов регистрировали методом хемилюминесценции (ХЛ) на приборе LKB Luminometr-1251 (Швеция) [3]. Для каждой системы определяли светосумму ХЛ в контрольных пробах без препаратов и в опытных пробах в присутствии соответствующих концентраций препаратов (за вычетом фоновых значений). “Дыхательный взрыв” перитонеальных макрофагов крыс вызывали стимуляцией клеток активирующим агентом — форболовым эфиром миристиновой кислоты в дозе 1 мкл/мл

[11]. Фиксировали светосумму спонтанной ($S_{сп}$) и стимулированной ($S_{акт}$) ХЛ. Также изучали ХЛ препаратов. Эффективность исследуемого вещества определяли по формуле:

$$ХЛ(отн) = \frac{S_{акт, преп} - S_{сп, преп}}{S_{акт} - S_{сп}}$$

Для оценки АОА изучаемых веществ, а также плазмы крови больных и доноров нами была выбрана модель, в которой желточные липопротеиды окисляются ионами железа [5]. Измерения проводили на спектрофотометре "Ultraspec-4050" (LKB, Швеция). АОА вычисляли по формуле:

$$АОА(\%) = \frac{А_{контр} - А_{опыт}}{А_{контр}} \times 100\%.$$

Ксимедон был применен у 25 больных ХО свищевой формы с локализацией процесса на нижних конечностях в стадии обострения (основная группа). Длительность заболевания варьировала от 2 до 10 лет. Препарат применяли в дозе 0,5 г 4 раза в сутки в течение 20 дней с момента поступления в стационар. Метилурацил назначали в такой же дозе 20 больным ХО (контрольная группа). В обеих группах преобладали мужчины. Донорами служили 20 студентов-медиков в межсессионном периоде. Оперативное лечение, производимое по мере обследования больных, через 3—4 дня после поступления, заключалось в некрэксвестрэктомии с мышечной пластикой остаточной полости под общим обезболиванием.

Эффективность применения ксимедона оценивали по общему состоянию и субъективным ощущениям больных, срокам нормализации температуры тела и стихания местных признаков воспаления в области раны (боль, гиперемия, отек), динамике показателей периферической крови, данным радионуклидной диагностики, срокам снятия швов, времени пребывания больных в стационаре.

Всем больным назначали общеклинические анализы, исследование антиоксидантной активности крови, рентгенограммы. Для оценки воспалительного процесса в костной ткани нами использовался метод радионуклидной диагностики, позволяющий судить о минеральном обмене и регенерации кости.

Сцинтиграммы регистрировали с использованием технеция (Tc^{99m}) в гамма-камере МВ-9100 (Венгрия) при поступлении, на 10 и 20-е сутки после операции. Больных брали на диспансерный учет и оценивали результаты их лечения через 3 года.

Результаты, полученные при исследовании влияния ксимедона и метилурацила на образование синглетного кислорода, представлены на рис. 1. Из приведенных данных видно, что ксимедон во всех изученных концентрациях ингибировал ХЛ. Метилурацил в больших концентрациях (10%) слабо (на 11%) снижал образование синглетного кислорода. Известно, что соединения, содержащие в своем составе двойные связи между атомами углерода, реагируют с O_2 с образованием диоксиетанов. Возможно, в такую связь вступает и ксимедон, имеющий делокализованную двойную связь на пиримидиновом кольце, что приводит к элиминации синглетного кислорода из среды и к снижению ХЛ в изучаемой системе.

На рис. 2 представлены результаты эксперимента в системе образования супероксида. Ни ксимедон, ни метилурацил не влияют на его образование, что, несомненно, является благоприятным фактором, так как супероксидный анион-радикал как первичное звено в дыхательном взрыве фагоцитов обеспечивает их фагоцитарную активность. Иными словами, фагоцитарное звено иммунитета ксимедоном не подавляется.

Изучаемые вещества, вводимые в систему, генерирующую ОН (реактив Фентона), вели себя односторонне (рис. 3). В высоких концентрациях (1—10% для ксимедона и 10% для метилурацила) препараты подавляли образование гидроксильного радикала. Причем ксимедон делал это значительно лучше: его 10%-ная концентрация уменьшала ХЛ практически до 0, тогда как метилурацил в той же концентрации — только наполовину. Важным положительным свойством препарата таким образом является эффективное подавление им гидроксильного радикала — одного из основных повреждающих агентов, неспецифически реагирующих со многи-

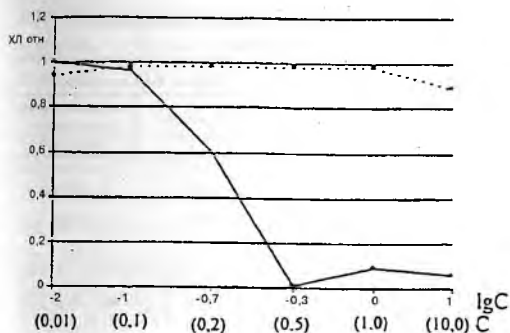


Рис. 1. Влияние препаратов на образование синглетного кислорода: ксимедона — обозначено сплошной линией, метилурацила — пунктирной; С — концентрация препаратов в мг/мл; lgC — десятичный логарифм концентрации препаратов. (то же в рис. 2—6).

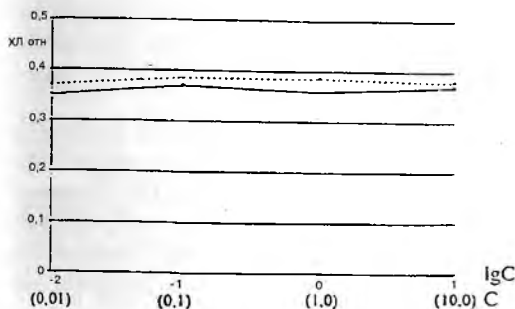


Рис. 2. Влияние препаратов на образование супероксидного анион-радикала.

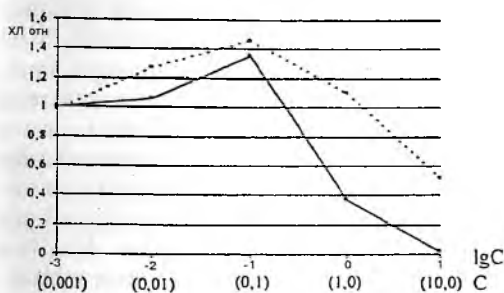


Рис. 3. Влияние препаратов на образование гидроксильного радикала.

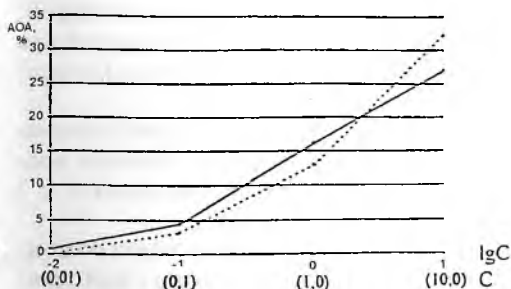


Рис. 4. Антиокислительная активность ксимедона и метилурацила.

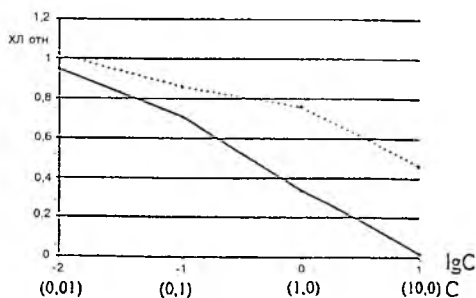


Рис. 5. Влияние препаратов на спонтанную люминолзависимую хемилюминесценцию перитонеальных макрофагов крыс.

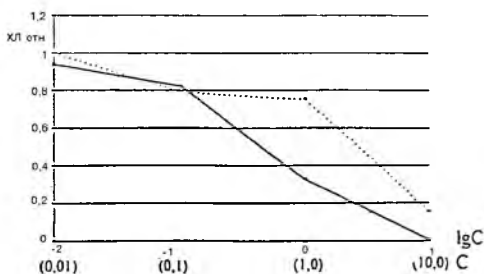


Рис. 6. Влияние препаратов на РМА-активированную люминолзависимую хемилюминесценцию перитонеальных макрофагов крыс.

ми молекулами, в том числе с ДНК и РНК.

Итак, по отношению к образованию АФК в модельных химических и ферментативных системах изученные вещества ведут себя неоднозначно.

Исследование АОА ксимедона и метилурацила в модели перекисного окисления желточных липопротеидов (рис. 4) показало, что исследованные препараты обладают сходной АОА в диапазоне концентраций от 0,1 до 10%.

При оценке влияния ксимедона и метилурацила на спонтанную ХЛ перитонеальных макрофагов крыс было обнаружено, что оба препарата в исследованном диапазоне концентраций подавляют ХЛ фагоцитов, причем ксимедон делает это эффективнее, чем метилурацил. Концентрация, при которой ксимедон снижает ХЛ на 50% (C50%), равна 0,4—1%, а для метилурацила — лишь 7% (рис. 5).

Результаты экспериментов по изучению влияния препаратов на индуцированный ХЛ-ответ макрофагов представлены на рис. 6. Как показывают эти дан-

**Время нормализации температуры тела, стихания местных воспалительных признаков
вокруг раны ($M \pm m$) и тип заживления операционной раны**

Группы больных	Тип заживления				Время нормализации	
	первичное натяжение		вторичное натяжение		температуры тела, сут	воспалительных признаков в ране, сут
	абс.	%	абс.	%		
Контрольная	14	70	6	30	$5,1 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,4$
Основная	19	76	6	24	$3,8 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,1$

ные, все исследованные вещества обладают способностью подавлять активацию клеток форболовым эфиром, однако выраженность этой способности различна. По графикам была рассчитана $C50\%$ — концентрация исследуемого вещества, после добавления которого к клеткам ХЛ-ответ составлял 50% от контрольных значений. Наименьшими значениями $C50\%$, а значит, наибольшей активностью обладал ксимедон: уже при содержании 0,65% в пробе ХЛ-ответ уменьшался в 2 раза, в то время как у метилурацила подобный эффект наблюдался при концентрации, равной 4,5%.

Таким образом, результаты экспериментального исследования действия пиримидиновых производных однозначно показывают способность ксимедона и метилурацила подавлять образование АФК, ПОЛ, а также спонтанную и активированную ХЛ перитонеальных макрофагов, причем ксимедон делает это намного эффективнее, чем метилурацил. Все это послужило основанием для дальнейшего изучения препарата при лечении больных ХО.

Клинические наблюдения за применением ксимедона показали, что в первые дни после операции больные основной группы вели себя более спокойно, имели хороший аппетит, были активнее, чем больные контрольной группы. Значительно меньше была у них выражена температурная реакция и раньше стихали местные признаки воспаления вокруг операционной раны (см. табл.).

Из таблицы видно, что у больных основной группы общая температура тела нормализовалась быстрее, чем в контроле, раньше были купированы местные воспалительные признаки. У больных, получавших ксимедон, на 20-е сутки лечения показатели периферической крови были значительно лучше, чем в контрольной группе: уменьшился лей-

коцитоз, увеличилось содержание лимфоцитов в крови, почти в 2 раза снизилась CO_2 .

АОА плазмы у здоровых доноров составляла $29,3 \pm 3,2\%$. У больных ХО этот показатель находился в пределах $39,3 \pm 4,6\%$. Стимуляция при ХО антиокислительной защитной системы крови свидетельствовала, что в организме больных были активированы процессы генерации АФК, в том числе и перекисления липидов.

Ксимедон и метилурацил в процессе лечения меняют АОА разнонаправленно: первый увеличивает АОА плазмы больных ХО с $40,3 \pm 3,2$ до $48,4 \pm 2,8\%$ (в среднем на 8%), а второй снижает ее с $39,8 \pm 3,7$ до $30,0 \pm 4,2\%$ (в среднем на 10%).

Влияние препаратов на регенерацию кости представлено по данным радионуклидной диагностики. У всех больных был высокий уровень накопления РФП в очаге поражения до операции, причем в основной группе этот показатель был несколько выше ($363 \pm 18\%$), чем в контрольной ($326 \pm 25\%$). После операции и по мере стихания воспалительных явлений снижался и уровень накопления РФП в пораженном сегменте. На 10-е сутки после операции процент накопления изотопа технеция у больных основной группы составлял 266 ± 37 , в контрольной — 308 ± 30 . На 20-е сутки лечения у больных, получавших ксимедон, он снизился до $167 \pm 35\%$, в то время как у больных контрольной группы был равен $225 \pm 17\%$.

Изучены результаты лечения больных через 3 года. Рецидивы заболевания возникли у 3 больных контрольной и у 2 больных основной групп.

Таким образом, данные экспериментального изучения ксимедона свидетельствуют о его антиокислительной активности в модельных системах. Исследо-

вание антиоксидантной активности плазмы у больных ХО позволяет сделать выводы, что кроме известных метаболических нарушений у них имеются серьезные нарушения свободно-радикальных процессов.

Клиническое применение ксимедона показало его способность достоверно увеличивать АОА плазмы больных, быстро снижать уровень накопления РФП в очаге поражения.

ВЫВОДЫ

1. Ксимедон и метилурацил подавляют образование активных форм кислорода в модельных системах, причем первый более эффективен, чем второй.

2. Обнаружено увеличение антиоксидантной активности плазмы крови у больных ХО по сравнению с таковой у доноров.

3. Лечение больных ХО ксимедоном приводит к увеличению антиоксидантной активности плазмы в 1,2 раза, а метилурацилом — в 1,4 раза.

4. Применение ксимедона улучшает клинические показатели состояния больных основной группы, уменьшает местные воспалительные признаки и нагноение в ране.

ЛИТЕРАТУРА

1. Али-Заде Ч.А., Караваев Ч.Н., Паукер А.В. и др. // Ортопед., травматол. — 1993. — № 3. — С. 100—102.

2. Бривибя К.К., Макарова Н.В., Турзит Г.Д. Изд. Акад. наук Латвии. — Сер. "Химия". — 1989. — № 3. — С. 90—92.

3. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах. /ВИНИТИ, сер. "Биофизика". — М., 1991.

4. Гостищев В.К. и др. // Хирургия. — 1996. — № 5. — С. 43—47.

5. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. // Лаб. дело. — 1988. — № 3. — С. 30.

6. Малышев К.В., Терещенко В.Ю., Семенов В.В. // Казанский мед. ж. — 1999. № 1. — С. 63—66.

7. Федоров В.Н. и др. // Ортопед., травматол. 1993. — № 3. — С. 50—52.

8. Черепнев Г.В., Терещенко В.Ю., Малышев К.В. и др. // Экспер. и клин. фармакол. / 1999. — № 2.

9. Halliwell B. // FEBS Lett. — 1978. — Vol. 96. — P. 238—241.

10. Misra H.P., Fridovich I. // J. Biol. Chem. — 1972. — Vol. 247. — P. 3170—3175.

11. Phillips H.J. // Acad. Press. — 1973.

Поступила 26.08.99.

EXPERIMENTAL AND CLINICAL VALIDITY OF THE USE OF XYMEDONE AS AN ANTIOXIDANT IN THE COMPLEX TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS

K.V. Malyshev

Summary

The antioxidant activity of blood plasma is studied in patients with chronic osteomyelitis. The experimental data on the effect of antioxidants of xymedone and methyluracil on the basic free radicals, peroxide oxidation of lipoids and chemoluminescence of peritoneal macrophages of rats made it possible to justify the use of drugs in the complex treatment of patients in pre- and postoperative period. As a result of the use of xymedone in the complex treatment the blood indices improved, antioxidant plasma activity increased in 25 patients of the basic group. In patients of the control group taking methyluracil the efficiency of the treatment was less significant.