

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β ДЛЯ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Варюшина Е.А.¹, Москаленко В.В.², Лебедева Т.П.²,
Бубнов А.Н.², Симбирцев А.С.¹

¹ Лаборатория иммунофармакологии ФГУП ГосНИИ ОЧБ ФМБА России, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

Резюме. Лечение длительно незаживающих ран и трофических язв нижних конечностей представляет трудную задачу современной хирургии. Возможность применения цитокинов, таких как интерлейкин-1 (IL-1) для лечения хронических ран представляет большой интерес. Было проведено клиническое изучение применения IL-1 β при хронических ранах различной этиологии у человека. Рекомбинантный человеческий IL-1 β (ГосНИИ ОЧБ) был использован в составе шести мазей на гидрофобной основе в концентрациях 0,05-5000 нг/мл. Препарат применяли у больных с трофическими язвами и длительно незаживающими ранами нижних конечностей на фоне венозной недостаточности или на фоне сахарного диабета I или II типов. До начала и в динамике лечения проводили клиническую оценку, измерение площадей ран и цитологическое исследование мазков-отпечатков из ран. Результаты оценки клинического действия IL-1 β во 2-3 фазах раневого процесса показали его высокую эффективность в концентрациях 0,5-5000 нг/мл. Наиболее эффективной оказалась концентрация IL-1 β в мази 50 нг/мл. Положительная клиническая динамика при применении мазей с IL-1 β во 2 и 3 фазах раневого процесса сопровождалась позитивными изменениями цитологической картины на мазках-отпечатках. Лечение мазью с IL-1 β в целом было эффективным у 90% пациентов всех групп, в том числе у больных диабетом. При применении IL-1 β происходило снижение сроков появления грануляций и начала эпителизации, а средняя скорость заживления ран повышалась в 1,5 раза по сравнению с лечением препаратами солкосерил и вундусан. Механизмы действия мази с IL-1 β были аналогичны в группах с разным происхождением хронических ран. Схема применения мази требовала ежедневных перевязок. Из осложнений отмечены лишь местные аллергические реакции в 1,9% случаев. Результаты, полученные в данном исследовании, убедительно доказали, что мазевая форма IL-1 β является эффективным лекарственным препаратом для лечения трофических язв и длительно незаживающих ран.

Ключевые слова: интерлейкин-1 β , хронические раны, трофические язвы, сахарный диабет.

Varyushina E.A., Moskalenko E.A., Lebedeva T.P., Bubnov A.N., Simbirtsev A.S.

INTERLEUKIN-1 β APPLICATION FOR LOCAL TREATMENT OF PURULENT AND NECROTIC LESIONS OF LOWER EXTREMITIES

Abstract. Treatment of chronic wounds is a difficult problem of contemporary surgery. An opportunity of curing these wounds by means of cytokines, such as interleukin-1 (IL-1), is an issue of great interest. A clinical trial of IL-1 β was performed in the patients with chronic wounds of different origin. Recombinant human IL-1 β was applied in six ointment compositions containing active drug (0.05 to 5000 ng/ml) using a hydrophobic vehicle. The preparations were used to treat non-healing wounds and trophic ulcers in patients with diseases of lower extremities complicated by venous insufficiency or diabetes type I and II. Clinical examinations, wound area measurements and cytological analysis of wound

Адрес для переписки:

Варюшина Елена Анатольевна
197110, ул. Пудожская, 7,
ФГУП ГосНИИ ОЧБ ФМБА России.
Тел.: (812) 230-78-62.
Факс: (812) 230-49-46.
E-mail: main@mail.spbnit.ru

smears were performed before starting the treatment and in the course of therapy. Clinical results for the wound lesions (2nd and 3rd phases) have demonstrated high efficacy of ointments containing IL-1 β at 0.5 to 5000 ng/ml. The most efficient concentration was determined as 50 ng IL-1 β in 1 ml of ointment. IL-1 β treatment caused clinical improvement of wound healing in 90% of the patients, including those with diabetes. IL-1 β application during 2nd and 3rd phases of wound process showed good correlations with cytological changes in wound cell smears. When using IL-1 β -containing ointments, the terms of granulation and epithelisation terms were reduced, along with 1.5-fold increase in average healing rates, as compared to conventional treatment with Solcoseryl and Vulnusan. Mechanisms of IL-1 β action were similar for the patients with wounds of different origin. Application of IL-1 β -containing requires daily changes of wound dressings with the ointment. What to complications, local allergic reactions were detected only in 1.9% of cases. To summarize, the results of our study provide an evidence that IL-1 β -containing ointment is a useful drug for effective treatment of non-healing wounds and trophic ulcers in patients. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 4-5, pp 439-448)

Введение

Лечение длительно незаживающих ран и трофических язв (ТрЯ) нижних конечностей (НК) представляет чрезвычайно трудную задачу. Основными причинами осложнений заживления ран при хронической венозной недостаточности и при диабете являются ишемия, невропатия и инфекции. В хронических ранах нормальный процесс заживления нарушен на одной или более стадиях развития раневого процесса, что приводит к замедлению репарации [4]. Гнойно-некротические поражения НК имеют место у 25-66% больных сахарным диабетом (СД), при этом у 25-83% таких больных приходится выполнять ампутации и экзартикуляции НК. К сожалению, методы, направленные на устранение основных патологических факторов — невропатии и ангиопатии, в том числе и хирургические, хотя и имеют положительное действие, не могут решить проблему полностью. Поэтому основными остаются терапия антибиотиками и методы местного воздействия на раневой процесс. Для лечения длительно незаживающих ран и ТрЯ широко применяют препараты, стимулирующие заживление: солкосерил, вульнузан, метилурациловую мазь и др. В настоящее время особый интерес вызывает возможность применения препаратов ростовых факторов и цитокинов для лечения осложненного заживления ран. Благодаря широкому спектру биологической активности, интерлейкин-1 (IL-1) регулирует все этапы воспалительного процесса и заживления ран. Обе формы IL-1 — IL-1 α и IL-1 β — могут стимулировать заживление и эпителизацию ран в экспериментах *in vivo* [12, 16]. Местное применение IL-1 β активирует факторы защиты в очаге воспаления у больных с абсцессами легких [13]. Целью данной работы являлось клиническое изучение эффективности препаратов IL-1 β , применяемых для лечения

длительно незаживающих ран и трофических язв у человека.

Материалы и методы

Исследование проведено в рамках клинических испытаний мазевой формы IL-1 β (ГосНИИ ОЧБ) на основании разрешения для клинических испытаний Бюро Фармакологического государственного комитета от 16 июля 1998 г. Мази содержали рекомбинантный человеческий IL-1 β в концентрациях 0,05-5000 нг/мл (табл. 1). Мазевая основа представляла собой смесь ланолина, вазелинового масла, коэмульгатора и воды, все компоненты основы разрешены фармакологическим комитетом для применения в составе мазевых форм лекарственных средств. Лечение проводили стационарно на базах 1 и 4 хирургических отделений Центра по лечению хирургических инфекций (городская больница № 5 Санкт-Петербурга) и 1 и 2 хирургических отделений Балтийской клинической центральной бассейновой больницы Санкт-Петербурга. Весь период пребывания в стационаре больные находились под наблюдением.

Испытания мазей, содержащих различные концентрации IL-1 β , проводили у 88 больных с гнойно-некротическими осложнениями НК в возрасте от 24 до 86 лет, среди них 27 мужчин и 61 женщина. Отдаленные результаты прослежены у 10 больных. Патологические состояния, приведшие к развитию хронического раневого процесса, были следующими. У 8 больных ТрЯ появились на фоне облитерирующего атеросклероза; у 19 больных — на фоне хронической венозной недостаточности НК (варикозное расширение вен НК — 13 человек, тромбофлебит глубоких вен — 6 человек). У 8 больных отмечалось замедление или отсутствие регенерации ран (травмы конечности и термические ожоги); у 2 больных — пролежни поясничной области и таза (на фоне заболеваний спинного и головного мозга); у 21 больного имелись гранулирующие раны и длительно незаживающие раны после оперативных вмешательств и гнойных процессов. 30 больных

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ IL-1 β В МАЗЯХ

№ мази	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7
IL-1 β , нг/мл	5000	500	50	5	0,5	0,05

страдали СД 1 и 2 типов с поражением сосудов и нервов НК и развитием ТрЯ и длительно незаживающих ран после гнойно-некротических осложнений. Контрольную группу составили 21 больной в возрасте от 36 до 64 лет, мужчин — 4, женщин — 17, причины возникновения ТрЯ и длительно незаживающих ран были аналогичны таковым в исследованной группе. Клиническое изучение применения мази с 50 нг/мл IL-1 β на фоне СД 1 и 2 типов проведено у 37 больных с трофическими язвами (20 человек) и незаживающими ранами НК (17 пациентов). Контрольная группа состояла из 14 больных СД: 7 из них с трофическими язвами и 7 — с длительно незаживающими ранами НК. В контрольных группах использовали мази на гидрофобной основе солкосерил и вульнузан (СОФАРМА, Фармахим, Болгария).

Клиническое обследование проводили по схеме, включающей сбор анамнеза, физикальные обследования, клинические и биохимические исследования крови и мочи. Специальные методы обследования включали рентгенографию и термографию. При оценке местного статуса учитывали глубину поражения, состояние кожных покровов вокруг раны (истончение, пигментация, дерматиты и т.д.), перифокальное воспаление, размеры раны, наличие в ране фибрина, гнойно-некротических масс, интенсивности образования грануляционной ткани, эпителизации и раневой контракции. Оценку общего состояния больного, клинических и биохимических показателей, взятие мазков-отпечатков с поверхности раны выполняли до начала лечения, на 3-4, 7-8, 14, 18 и 21 сутки. Мазь, содержащую IL-1 β , наносили на марлевую салфетку и накладывали на поверхность раны. Динамику изменений состояния раны и перираневой зоны оценивали ежедневно во время перевязок. Размеры раны измеряли с помощью планиметрического метода и вычисляли процент уменьшения площади раневой поверхности за сутки [2].

С поверхности ран брали мазки-отпечатки ран по методу Т.М. Покровской [2]. Препараты окрашивали по методу Романовского—Гимзы и изучали в световой микроскоп. При этом учитывали среднее количество клеток и процент сохранных лейкоцитов в поле зрения на не менее чем пяти полях зрения в разных участках препарата (ок. 16, об. 40); относительное количество разных типов лейкоцитов и клеток соединительной ткани подсчитывали с использованием масляной иммерсии (ок. 16, об. 100). Также учитывали наличие эпителиальных клеток, присутствие микроорганизмов и их расположение. Микрофотографии препаратов выполняли с использованием системы визуализации изображений («Leica», Германия).

При статистической обработке полученных результатов производили расчет среднего и ошибки среднего ($Mean \pm SEM$). Различия между группами оценивали с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни.

Результаты

Изучение действия мазей с IL-1 β в 1 фазе раневого процесса

В фазе воспаления до начала лечения отделяемое из вяло гранулирующих ран и ТрЯ было значительным и носило гнойный или серозно-гнойный характер, на поверхности раны отмечали наличие фибрина. Очагов грануляционной и эпителиальной тканей не было. Вокруг ран имелись отек, гиперемия. На мазках-отпечатках наблюдали большое количество нейтрофилов в низкой степени сохранности, макрофаги и лимфоциты в ране практически отсутствовали. Особенностью этого периода было наличие большого количества микроорганизмов в ране, располагавшихся преимущественно внеклеточно, наблюдался незавершенный и извращенный фагоцитоз.

Мази с концентрацией IL-1 β 0,5-5000 нг/мл (табл. 1) применяли в течение 5 суток. В контрольной группе использовали растворы антисептиков. В качестве плацебо применяли мазевую основу препарата. В течение первых суток лечения наблюдали увеличение количества гноя, отделяемого, сохранение или усугубление перифокальных изменений. Аналогичное действие наблюдалось также при использовании плацебо. Цитологические показатели при этом оставались без динамики. Такие результаты явились основанием для отказа от дальнейшего использования данной формы препарата в стадиях альтерации и экссудации 1 фазы раневого процесса.

Клиническая эффективность применения мазей с IL-1 β во 2 и 3 фазах раневого процесса

До начала местного лечения скудное отделяемое из вялогранулирующих ран и ТрЯ, развившихся на фоне СД, носило серозный характер, грануляционная ткань была вялой, бледной, туеской, консистенция ее была незернистой, очаги эпителизации отсутствовали, отмечался налет фибрина на раневой поверхности. Результаты цитологического исследования свидетельствовали о наличии воспалительного процесса в ране при отсутствии репаративных процессов и угнетении местного иммунитета. Для лечения больных во 2 фазе заболевания использовали мази, содержавшие 0,5-5000 нг/мл IL-1 β (табл. 1). Клинические результаты, полученные при использовании мазей с различным содержанием IL-1 β , представлены на рисунке 1.

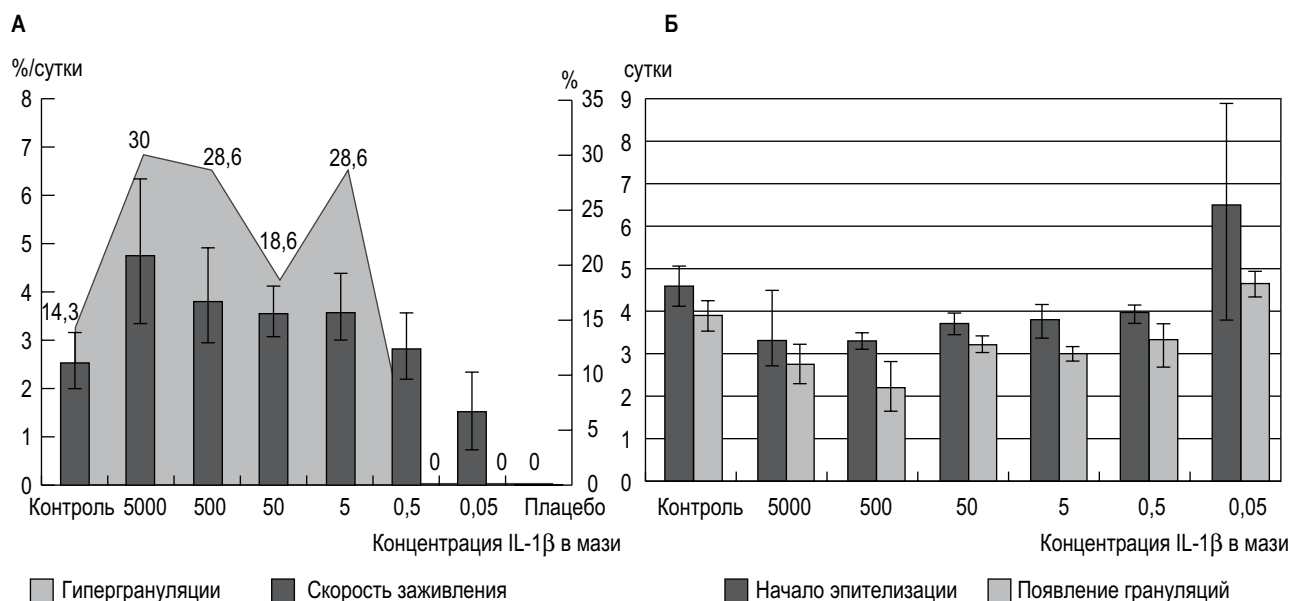


Рисунок 1. Клинические показатели заживления ран при лечении мазями с 0,05-5000 нг/мл IL-1β

А – скорость заживления ран и развитие гипергрануляций;

Б – сроки появления эпителизации и грануляций.

Мазь № 2 применяли у 10 больных в возрасте от 36 до 64 лет. Длительность существования ран до начала лечения составляла от 2 до 6 недель, а ТрЯ от 4 месяцев до 4 лет. Площадь раневой поверхности – от 35 до 5780 мм². При применении мази № 2 грануляции были сочными, зернистыми. При этом уже на 4-5 сутки отмечалось развитие гипергрануляций у 5 больных. У 2 больных в течение 3 недель произошло полное заживление ран. У 3 больных (30%) рост гипергрануляций на 4-5 сутки лечения потребовал отмены препарата. Из побочных явлений у 2 больных отмечалось чувство жжения в области раны, самостоятельно прекращавшееся через 2-3 часа.

Применение мази № 3 изучено у 7 больных с продолжительностью местного раневого процесса от 2 недель и длительностью ТрЯ от 3 месяцев до 2 лет. Размеры ран – от 236 до 5521 мм². При лечении мазью № 3 в ране появлялась сочная, легко ранимая, с признаками капиллярного кровотечения, грануляционная ткань. Гипергрануляции развились у 2 больных на 7-8 сутки лечения препаратом. К исходу 7-8 суток отмечено интенсивное развитие эпителия по всему периметру раны. У 2 больных (28,6%) этой группы отмечено уменьшение площади ран в 2 раза к 7-10 суткам лечения.

Клиническое действие мази № 4 изучено у 43 больных. Длительность местного гнойно-некротического процесса была более 2 недель, продолжительность существования ТрЯ – от 1 месяца до 4 лет. Площадь раневой поверхности составляла от 177 до 4960 мм². При использовании

мази развитие грануляционной ткани отмечали раньше, чем в контрольной группе. Рост гипергрануляций зарегистрирован у 8 больных на 8-10 сутки лечения. Появление эпителизации отмечено у всех больных и, в целом, раньше на сутки, чем в контроле. Только при применении мази № 4 появлялась как краевая эпителизация, так и зоны эпителизации в центральных участках раны. Средняя скорость заживления в данной группе превышала в 1,4 раза показатели в контрольной группе. Уменьшение размеров раны в 2 раза отмечено у 12 (27,9%) больных в сроки от 7 до 14 суток. Полного заживления ран достигли у 6 больных (14%) с площадью ран до 1000 мм² в сроки от 2 до 4 недель. На основании выполненных исследований данная концентрация IL-1β в мази была признана оптимальной для дальнейшего применения.

Мазь № 5 использовали у 7 больных с давностью раневого процесса от 14 суток и ТрЯ от 4 месяцев до 3 лет. Площадь раны составляла от 179 до 3216 мм². При лечении мазью № 5 грануляционная ткань начинала развиваться в среднем на 3 сутки, при этом развитие гипергрануляций выявлено у 2 больных на 8-10 сутки лечения. Эпителизация появлялась по краям раны. Уменьшение раневой поверхности, площадью 1175 мм², в 2 раза на 7 сутки лечения отмечено у 1 больного (12,5%), а полное заживление раны, площадью 950 мм², у 1 пациента (12,5%) к 14 суткам наблюдения.

Мазь № 6 была применена у 8 больных с длительно незаживающими ранами (давность раневого процесса более 3 недель) и ТрЯ длительно-

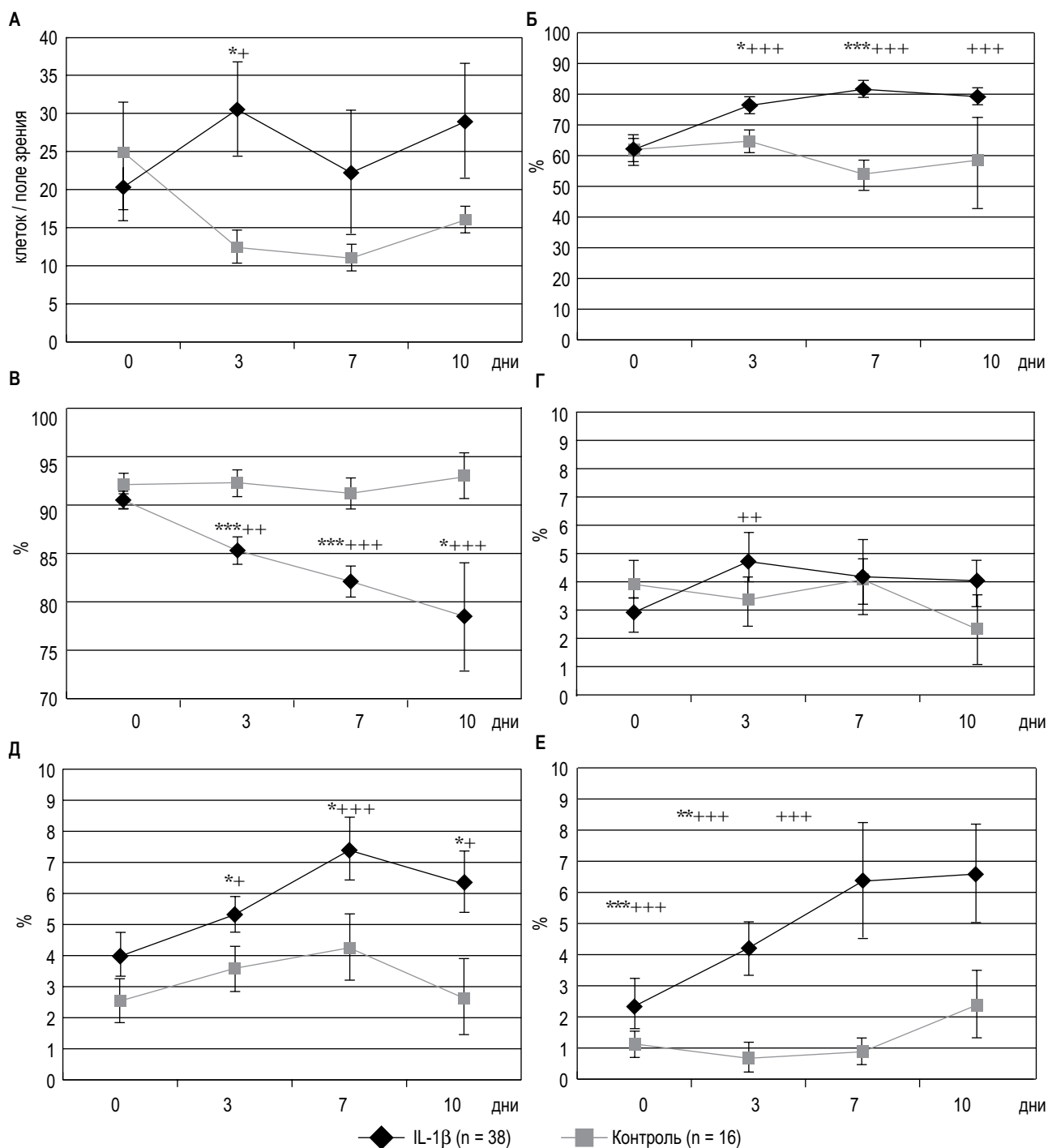


Рисунок 2. Показатели цитологического исследования мазков-отпечатков при применении мази № 4 (50 нг/мл IL-1 β)

А – количество лейкоцитов, **Б** – сохранность лейкоцитов, **В** – нейтрофилы, **Г** – лимфоциты, **Д** – макрофаги, **Е** – фибробласты
Примечания. +, ++, +++ – достоверность различий по сравнению с исходным ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$); *, **, *** – достоверность различий по сравнению с контролем ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$).

стью от 6 месяцев до 20 лет. Площадь раневой поверхности составляла от 942 до 3731 мм². При использовании мази № 6 показатели заживления ран снижались по сравнению с приведенными выше, однако продолжали превышать контрольные значения. Активация вялотекущего воспалительного процесса и начало регенерации про-

исходили только к 7-8 суткам лечения. Развитие гипергрануляций не отмечено.

Показатели заживления ран при использовании мази № 7 изучены у 3 больных с давностью ран 17 суток и давностью ТрЯ от 1 недели до 3 лет. Площадь ран и язв составила от 427 до 1166 мм². Показатели раневого заживления в данной груп-

ТАБЛИЦА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЗИ, СОДЕРЖАЩЕЙ 50 нг/мл IL-1 β , У БОЛЬНЫХ СД С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Клинические показатели эффективности	Группы больных	Длительно незаживающие раны	Трофические язвы
Скорость заживления, %/сутки	IL-1 β	3,69 $\pm$ 0,42	3,05 $\pm$ 0,54
	контроль	2,53 $\pm$ 0,23	1,71 $\pm$ 0,35
Срок появления грануляций, сутки	IL-1 β	2,89 $\pm$ 0,16	4,0 $\pm$ 0,54
	контроль	3,8 $\pm$ 0,21	4,5 $\pm$ 0,51
Срок появления эпителизации, сутки	IL-1 β	3,67 $\pm$ 0,42	4,2 $\pm$ 0,49
	контроль	4,5 $\pm$ 0,33	4,7 $\pm$ 0,42
Развитие гипергрануляций, %	IL-1 β	3	6
	контроль	0	0

Примечание. Количество больных в группах: длительно незаживающие раны (IL-1 β – 17 человек, контроль – 7 человек), трофические язвы (IL-1 β – 20 человек, контроль – 7 человек).

пе были ниже, чем у всех остальных исследованных концентраций IL-1 β , а также ниже, чем в контрольной группе.

При использовании плацебо у 5 больных отмечено лишь увеличение количества раневого отделяемого. Состояние раны, окружающих тканей, а также характер отделяемого и размеры ран оставались без изменений (рис. 1А). Не было отмечено появления эпителизации и грануляционной ткани в изучаемые сроки.

Цитологическое исследование при применении мазей с IL-1 β

Результаты цитологического анализа представлены на рисунке 2 (А-Г) и на микрофотографиях (рис. 3, II обложка; рис. 4, III обложка). До лечения (рис. 2, 3А) в мазках-отпечатках преобладали нейтрофилы, процент сохранных клеток и количество лейкоцитов были невысокими. Макрофаги и лимфоциты были единичными, а фибробласты и эпителиальные клетки почти полностью отсутствовали. Отмечали значительное количество микробов, которые располагались внеклеточно вокруг разрушенных нейтрофилов (рис. 4А). Таким образом, налицо

были признаки вялотекущего воспалительного процесса. На 3-4 сутки увеличилось количество лейкоцитов на поверхности ран и их сохранность (рис. 2). Начиная с 3-4 суток, процент нейтрофилов последовательно снижался. Доля лимфоцитов повысилась по сравнению с исходными данными, а доли макрофагов и фибробластов возросли также и по сравнению с контролем. Отмечено появление эпителиальных клеток. Микрофлора наблюдалась вне- и внутриклеточно. Цитограмма свидетельствовала о стихании воспалительного процесса (рис. 3Б). На 7-8 сутки количество лейкоцитов немного снизилось, при этом еще больше возросла их жизнеспособность. Доля макрофагов стала максимальной. Увеличилось относительное количество клеток соединительной ткани. Наблюдали эпителиальные клетки и картины фагоцитоза микробов нейтрофилами. Таким образом, происходила активация репаративных процессов (рис. 3В). На 10-14 сутки позитивные изменения сохранялись (рис. 2, 3Г). Количество лейкоцитов вернулось к исходному уровню, сохранность нейтрофилов была выше, чем до лечения. Доля фибробластов продолжала

ТАБЛИЦА 3. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЗИ № 4 У БОЛЬНЫХ С ТРОФИЧЕСКИМИ ЯЗВАМИ И ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИМИ РАНАМИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Клинические критерии эффективности	Трофические язвы на фоне ХВН (n = 15)	Длительно незаживающие раны (n = 7)	Больные сахарным диабетом	
			длительно незаживающие раны (n = 17)	трофические язвы (n = 20)
Скорость заживления (%/сутки)	5,66 $\pm$ 1,0	4,71 $\pm$ 0,1	3,69 $\pm$ 0,42	3,05 $\pm$ 0,54*
Сроки появления эпителизации (сутки)	3,0 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,56	3,67 $\pm$ 0,42	4,0 $\pm$ 0,49
Сроки появления грануляций (сутки)	3,0 $\pm$ 0,4	2,56 $\pm$ 0,29	2,89 $\pm$ 0,16	4,0 $\pm$ 0,54

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой с трофическими язвами на фоне ХВН.

возрастать по сравнению с исходными значениями. Количество микроорганизмов снижалось, микробы располагались главным образом внутриклеточно (рис. 4Б). На препаратах наблюдали скопления эпителиальных клеток (рис. 3З).

В группах больных, в которых применяли мази с содержанием IL-1 β 0,5–5000 нг/мл, цитологические показатели демонстрировали аналогичную приведенной выше динамику, при этом изменения были более выраженными по мере увеличения концентрации IL-1 β . При использовании мази с концентрацией 0,05 нг/мл IL-1 β или плацебо цитологическая картина на 3–4 и 7–8 сутки не отличалась от таковой по сравнению с данными до начала лечения.

Результаты лечения контрольной группы

При применении препаратов сравнения во 2 и 3 фазы раневого процесса также наблюдали благоприятный эффект (рис. 1). Однако полной эпителизации в сроки 14 суток у пациентов данной группы не достигли, а уменьшение размеров раны в 2 раза наблюдали только у 2 больных (9,5%). Рост гипергрануляций отмечен у 3 больных. Цитологические данные в контрольной группе характеризовали более медленную активацию вялотекущих воспалительных и репаративных процессов в ране по сравнению с опытными группами (рис. 2, 3Д–Ж).

Оценка эффективности мази с 50 нг/мл IL-1 β ран у больных СД

У больных СД 1 и 2 типов с длительно незаживающими ранами НК длительность раневого процесса была от 2 до 6 недель. Площадь ран — от 177 до 2827 мм². У больных СД 1 и 2 типов с ТрЯ длительность существования язвы была от 2 до 10 месяцев. Площадь язв составляла от 177 до 4329 мм². У 13 больных наблюдали ороговение краев язвы, у 5 больных — пятна гиперпигментации. Клиническая картина соответствовала вялотекущему воспалительному процессу без признаков регенерации. Наблюдали небольшое количество фибрина на поверхности ран, отделяемое носило преимущественно серозный характер, грануляции были бледными, тусклыми, вялыми, очагов эпителизации не наблюдалось. Кожа вокруг раны была истончена, сухая.

При использовании мази № 4 у всех больных отмечена положительная динамика клинических показателей (табл. 2). Грануляционная ткань и эпителизация начали развиваться раньше, чем в контрольных группах. Средняя скорость заживления раны в 1,5–1,8 раз превышала скорость заживления в контрольных группах. Гипергрануляции развились у 2 больных с длительно незаживающими ранами на 12–13 сутки лечения, что потребовало отмены препарата, осложнений при лечении

данной группы больных не было. У 3 больных с ТрЯ наблюдали рост гипергрануляций на 11–13 сутки, что потребовало отмены препарата. Местная аллергическая реакция развилась в двух случаях (описано ниже).

Цитологический состав мазков-отпечатков до лечения свидетельствовал об отсутствии регенеративных процессов. Это выражалось в низком количестве клеток и невысоких показателях их жизнеспособности. Преобладали нейтрофилы, тогда как лимфоциты и макрофаги были в небольшом количестве. Микробы на поверхности раны находились в умеренном количестве, при этом фагоцитоз был незавершенным или извращенным (рис. 4А). После применения мази с IL-1 β в мазках-отпечатках у больных СД наблюдали положительную динамику цитологического состава, направленность которого была сходной с таковой, подробно описанной выше (данные не представлены). В целом, изменения цитологических показателей у больных СД были менее выраженными, чем в группах пациентов, не страдавших диабетом.

Сравнительная оценка применения IL-1 β при ранах различной этиологии

Сравнительная оценка эффективности мази, содержащей 50 нг/мл IL-1 β , проводилась в группах больных с ТрЯ и длительно незаживающими ранами различной этиологии (табл. 3). Наибольшей была скорость заживления в группе больных с трофическими язвами НК на фоне ХВН. Скорость заживления ТрЯ у пациентов с СД была ниже по сравнению с группой пациентов, не страдавших СД.

Выбор схемы применения мазей с IL-1 β

У 10 больных применяли схемы перевязок, наиболее часто используемые в хирургических отделениях. У 5 больных перевязки с мазью выполняли ежедневно, у 5 — через день. При ежедневной смене мазевых повязок раневое отделяемое было в небольшом количестве и носило серозный характер. Грануляционная и эпителиальная ткани появлялись в сроки, указанных в предыдущем разделе. При смене повязки с мазью через сутки отмечали увеличение количества раневого экссудата. Грануляционная ткань и очаги эпителизации появлялись на 4–5 суток позже. Поэтому в качестве рабочей была избрана схема, предусматривающая ежедневные перевязки больных.

Осложнения при использовании мази с IL-1 β

При использовании изучаемого препарата были отмечены осложнения у 2 больных из 105 (1,9%). У обеих больных, с указанием на аллергические реакции в анамнезе, местные проявления аллергии возникли на 4–5 сутки после примене-

ния мази с IL-1 β , характеризовались появлением уртикарной сыпи в окружности язвы и зуда и легко купировались на 2-3 сутки после отмены препарата и назначения десенсибилизирующей терапии.

Обсуждение

Местная лекарственная терапия раневого процесса может быть разделена на 2 этапа в соответствии с задачами, стоящими в каждой из фаз раневого процесса. В 1 фазе основной задачей является ускорение отторжения погибших тканей и эвакуация раневого отделяемого, а во 2 — обеспечение оптимальных условий для развития грануляционной ткани и эпителизации. Приступая к изучению клинической эффективности мазевой формы IL-1 β , необходимо было выяснить, в какой из фаз раневого процесса будет проявляться его действие. Согласно литературным данным, этот цитокин стимулирует антимикробные функции нейтрофилов [11], ускоряя очищение раны, и, таким образом, должен оказывать позитивное действие в стадии альтерации и экссудации. С другой стороны, IL-1 усиливает пролиферацию фибробластов и синтез ими компонентов внеклеточного матрикса [15], а также может стимулировать эпителизацию [12], что являлось прямым показанием к использованию его в репаративной фазе. Применение мази у больных с ранами, где преобладающей были стадии альтерации и экссудации, не только не ускоряло очищение раны, но, напротив, замедляло его, что вынудило отказаться от дальнейшего использования препарата в 1 фазе раневого процесса. Однако, поскольку точно такой же результат получен при использовании плацебо, то, по-видимому, отсутствие эффекта обусловлено невозможностью проникновения IL-1 β вглубь раны и препятствием, которое создает жирорастворимая мазевая основа для оттока раневого содержимого. Поэтому этот раздел исследования необходимо провести, используя мазь с IL-1 β на гидрофильной основе.

Результаты оценки клинического действия IL-1 β во 2-3 фазах раневого процесса показали его эффективность при использовании всех концентраций. Однако при действии IL-1 β в малых концентрациях (0,05 нг/мл — мазь № 7), хотя и отмечались процессы регенерации в отличие от плацебо, ни один из показателей не достигал значений контрольной группы. Начиная с концентрации 0,5 нг/мл и выше, происходило снижение сроков появления грануляций и начала эпителизации. Скорость заживления ран составляла 3,55-4,75%/сутки, то есть приближалась к скорости при нормальном течении заживления раны (4%/сутки) [1]. Концентрация IL-1 β 50 нг/мл (мазь № 4) оказывала наиболее благоприятный

эффект на процесс эпителизации, поскольку только при ее использовании появлялись очаги островковой эпителизации в центре раны. С другой стороны, начиная с использования мази № 5 (5 нг/мл IL-1 β), рост грануляций становился интенсивнее, и появление гипергрануляций отмечено у каждого 4-5 больного. При использовании IL-1 β в самой высокой концентрации (5 мкг/мл) развитие гипергрануляций отмечено у 30% больных. Мазь № 2, таким образом, оказывала наиболее эффективное влияние на процесс формирования грануляций. Применение IL-1 β , по-видимому, также активизировало формирование миофибрилл, что ускоряло уменьшение размеров раны за счет контракции. Таким образом, для дальнейшего клинического применения была выбрана мазь № 4, поскольку при концентрации IL-1 β 50 нг/мл получены, с одной стороны, достаточно высокие показатели заживления раны, а с другой — рост гипергрануляций отмечен на уровне контрольной группы, что свидетельствует о синхронном протекании процессов образования грануляционной ткани и эпителизации. При использовании мази № 4 полное заживление ран и острых язв в течение 4 недель достигнуто у 5 из 43 больных (12,5%) пациентов; уменьшение размеров ран более чем на 50% — у 6 (15%) больных; заживление менее чем на 25% — у 3 (9,5%) больных. Если учесть, что эти больные безуспешно лечились на протяжении нескольких месяцев, то результаты следует признать вполне удовлетворительными. Клинические результаты коррелировали с полученными ранее экспериментальными данными [15].

Цитологическое исследование до лечения мазями с IL-1 β показало, что при хронических незаживающих ранах у человека преобладали деструктивные формы лейкоцитов, фагоцитоз приобретал характер незавершенного и заканчивался гибелью лейкоцита. Макрофаги и лимфоциты были единичными на мазках-отпечатках. Известно, что при диабете функции нейтрофилов резко снижаются [9]. При нарушениях фагоцитарной активности нейтрофилов не происходит очищения раны от микробов и продуктов распада, что затрудняет репарацию. В хронических ранах и при диабете в раневом очаге снижено количество Т-лимфоцитов и макрофагов, нарушаются функции макрофагов [8, 9]. Дефицит лимфоцитов и особенно макрофагов вызывает снижение заживления ран, так как эти клетки являются ключевым источником ростовых факторов [6, 8]. Цитологические показатели подтверждали клиническую картину снижения роста грануляционной ткани и эпителизации ран, поскольку фибробласты и эпителиальные клетки в препаратах почти полностью отсутство-

вали. Как показано, при СД наблюдают снижение функций фибробластов и тяжелый дефицит эпителизации, которые связаны с нарушениями продукции ростовых факторов, таких как PDGF, TGF β -1 и KGF [7, 17]. При СД дефицит инсулина и гипергликемия ингибируют продукцию коллагена и дифференцировку кератиноцитов [14]. Применение мазевой формы IL-1 β приводило к увеличению количества функционально активных лейкоцитов, усилению фагоцитоза и появлению Мф в раневом очаге, что способствовало ускорению очищения раны от некротических тканей и микроорганизмов. Известно, что IL-1 способен стимулировать фагоцитоз нейтрофилов *in vitro* [11]. Стимуляция IL-1 β восстанавливает нарушенные функции макрофагов при СД и ускоряет заживление ран [8]. На фоне применения IL-1 β наблюдалось увеличение количества фибробластов и клеток эпителия, что проявлялось в снижении сроков начала роста грануляционной ткани и эпителизации. По литературным данным, IL-1 может усиливать рост фибробластов, а также стимулирует эпителизацию [12, 15, 16]. Таким образом, при применении IL-1 β в раневом очаге происходило разрешение воспаления и активация репарации.

Хорошо известно, что у больных, страдающих СД, происходит резкое ухудшение течения раневого процесса [3, 4]. При компенсированном СД сроки образования грануляционной ткани и рубцевания удлиняются в 1,5 раза, а при некомпенсированном СД — в 2,5 раза. Исследование эффективности мази № 4, содержащей IL-1 β в оптимальной концентрации, у больных СД 1 и 2 типов показало, что механизмы действия IL-1 β у больных СД оказались аналогичны тем, что были отмечены для смешанной группы. Однако переход от дисрегенеративно-воспалительной фазы к регенеративной происходил более медленно. Сравнительное изучение лечебной эффективности мази, содержащей IL-1 β , проводили при хронических ранах различного генеза: на фоне облитерирующего атеросклероза, варикозного расширения вен НК и у больных СД. IL-1 β , нормализуя дисрегенераторные процессы воспалительной фазы, не затрагивает других причин образования ТрЯ. Как оказалось, наибольшей была скорость заживления язв, обусловленная венозной недостаточностью, она значительно превышала скорость заживления ТрЯ у больных СД. Это свидетельствует о том, что именно наличие нейропатии в сочетании с ангиопатией значительно ухудшает течение регенераторных процессов.

На основании выбранной схемы применения препарата необходимо проводить ежедневную смену повязок с нанесенным слоем мази. При

уменьшении частоты перевязок наблюдали ослабление лечебного эффекта, по-видимому, за счет разрушения IL-1 β под действием температурного фактора. Из осложнений отмечены лишь местные аллергические реакции у 2 больных с неблагоприятным аллергическим анамнезом, что, безусловно, является противопоказанием к дальнейшему ее использованию у конкретного больного.

Таким образом, нами было впервые проведено клиническое изучение действия мазевой формы IL-1 β у больных с хроническими ранами НК. При этом положительный результат отмечен более чем у 90% больных. Средняя скорость заживления ран при использовании мази, содержащей IL-1 β , была почти в 1,5 раза выше, чем при применении хорошо зарекомендовавших в клинической практике препаратов. Цитологические показатели коррелировали с клиническими результатами. Результаты, полученные в данном исследовании, убедительно доказали, что мазевая форма IL-1 β является эффективным лекарственным препаратом для лечения ТрЯ и длительно незаживающих ран различного генеза.

Список литературы

1. Костюченко Б.М., Карлов В.А. Клиника раневого процесса // Раны и раневая инфекция: Рук-во для врачей / Под ред. М.И. Кудрина, Б.М. Костюченка — М.: «Медицина», 1990. — С. 186-221.
2. Даценко Б.М., Бирюкова С.В., Тамм Т.И. Методические рекомендации по экспериментальному изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран. — М., 1989. — 46 с.
3. Greenhalgh D.G. Wound healing and diabetes mellitus // Clin. Plast. Surg. — 2003. — Vol. 30. — P. 37-45.
4. Enoch S., Leaper D.J. Basic science of wound healing // Surgery. — 2005. — Vol. 23. — P. 37-42.
5. Jude E.B., Blakytyn R., Bulmer J., Boulton A.J., Ferguson M.W. Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers // Diabet. Med. — 2002. — Vol. 19. — P. 440-447.
6. Leibovich S.J., Ross R. The role of macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum // Am. J. Pathol. — 1975. — Vol. 78. — P. 71-91.
7. Lerman O.Z., Galiano R.D., Armour M., Levine J.P., Gurtner G.C. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. Impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia // Am. J. Pathol. — 2003. — Vol. 162. — P. 303-312.
8. Maruyama K., Asai J., Ii M., Thorne T., Losordo D.W., D'Amore P.A. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired dia-

betic wound healing // *Am. J. Pathol.* — 2007. — Vol. 170. — P. 1178-1191.

9. Moore K., Ruge F., Harding K.G. T lymphocytes and the lack of activated macrophages in wound margin biopsies from chronic leg ulcers // *Br. J. Dermatol.* — 1997. — Vol. 137. — P. 188-194.

10. Nolan C.M., Beaty H.N., Bagdade J.D. Further characterization of the impaired bactericidal function of granulocytes in patients with poorly controlled diabetes // *Diabetes.* — 1978. — Vol. 27. — P. 889-894.

11. Ogle J.D., Noel J.G., Balasubramanian A., Sramkisty R.M., Ogle C.K., Alexander J.W. Comparison of abilities of recombinant IL-1 α and β and noninflammatory IL-1 β fragment 163-171 to upregulate C3b receptor (CRI) on human neutrophils to enhance their phagocytic capacity // *Inflammation.* — 1990. — Vol. 14. — P. 182-194.

12. Sauder D.N., Kilian P.L., McLane J.A., Quick T.W., Jakubovic H., David S.C., Eaglstein W.H., Mertz P.M. Interleukin-1 enhances epidermal wound healing // *Lymphokine Res.* — 1990. — Vol. 9. — P. 465-473.

13. Simbirtsev A., Variouchina E., Konusova V., Kotov A., Ketlinsky S., Salamatov A., Bisenkov L. Local administration of interleukin-1 β for the treatment of lung abscesses induces neutrophil activation and

changes in proinflammatory cytokine production // *Eur. Cytokine Netw.* — 2001. — Vol. 12. — P. 420-429.

14. Spravchikov N., Sizyakov G., Gartsbein M., Accili D., Tennenbaum T., Wertheimer E. Glucose effects on skin keratinocytes. Implications for diabetic skin complications // *Diabetes.* — 2001. — Vol. 50. — P. 1627-1635.

15. Thornton S.C., Pot S.V., Walsh B.J., Penny R., Breit S.N. Interaction of immune and connective tissue cells: the effects of lymphokines and monokines on fibroblast growth // *J. Leuk. Biol.* — 1990. — Vol. 47. — P. 312-320.

16. Variouchina E.A., Antsiferova M.A., Aleksandrov G.V., Konusova V.G., Pigareva N.V., Petrov A.V., Simbirtsev A.S. Topical application of interleukin-1 β accelerates wound healing in hydrocortisone-treated mice // *Russian J. Immunol.* — 2003. — Vol. 8. — P. 155-164.

17. Werner S., Breden M., Hubner G., Greenhalgh D.G., Longaker M.T. Induction of keratinocyte growth factor expression is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse // *J. Invest. Dermatol.* — 1994. — Vol. 103. — P. 469-473.

поступила в редакцию 26.03.2008

принята к печати 16.04.2008