

А.С. Шпигель, З.А. Грешнова

# Терапевтические эффекты Траумель С при лечении келоидных рубцов

Самарский государственный медицинский университет

## Содержание

В процессе проспективного рандомизированного, открытого контролируемого, сравнительного в параллельных группах исследования оценивалась целесообразность дополнительного назначения препарата Траумель С для лечения келоидных рубцов. Обследован 51 пациент: 26 пациентов контрольной группы (общепринятое лечение) и 25 пациентов изучаемой группы, которым дополнительно к общепринятому лечению (кеналог 40 в рубец 2–3 инъекции, 1 раз в месяц) назначали препарат Траумель С в инъекциях. Особенностью исследования является расчет количественных показателей эффекта вмешательства. Клиническая оценка и результаты исследований *in vitro*, выполненные на первичных культурах дермальных фибробластов человека, свидетельствует о целесообразности дополнительного назначения препарата Траумель С при лечении келоидных рубцов.

## Summary

The expediency of Traumeel S prescription for keloid cicatrixes treatment was estimated in prospective randomized, open controlled comparative study in parallel groups. 51 patients were observed: 26 patients in control group (conventional treatment) and 25 patients in main group, with which is padding to the conventional treatment (Kenalog 40 in cicatrix 2–3 injections, once a month) became Traumeel S injections. The clinical estimation and effects of *in vitro* examinations, carried out on primary cultures of human dermal fibroblasts, testifies to expediency of additional prescription of Traumeel S at treatment for keloid cicatrixes.

## Введение

Развитие, прогноз, способы лечения и профилактики келоидных рубцов представляют сложную и актуальную медико-социальную проблему. Патогенез келоидных рубцов не установлен. Отсутствует единый подход к определению критериев эффективности лечения. Вопрос о тактике лечения данной нозологии вызывает дискуссию. Это связано с недостаточной эффективностью традиционно используемых методов лечения (хирургическое иссечение, гормонотерапия, рентгенотерапия, ферментотерапия, криодеструкция, СВЧ-криодеструкция), после применения которых рецидивы возникают в 30–50% случаев, а косметический результат зачастую

не оправдывает ожиданий (8). Поиски новых методов лечения и профилактики, которые приостановили бы прогрессирование келоида и его рецидива, не прекращаются (6, 8).

В последние годы появились многочисленные исследования, в которых рекомендуется использовать антигомотоксические лекарственные средства при травмах и после хирургических вмешательств (3). Терапевтический подход в гомотоксикологии аналогичен общепринятой терапии: диагностика и назначение комплексных биологических препаратов осуществляется не на основе ментальной и соматической симптоматики и принципа подобия, как в го-

меопатии, а на основе анатомо-клинического диагноза – нозологический принцип назначения. На наш взгляд, представляет интерес оценить с позиции доказательной медицины возможность дополнительного использования препарата Траумель С для лечения келоидных рубцов.

## Цели и задачи

Цель исследования заключалась в клинико-экспериментальной оценке эффектов препарата Траумель С при лечении келоидных рубцов.

Задачи исследования:

1. Провести проспективное, рандомизированное, открытое сравнительное в параллельных группах клиническое исследование эффективности дополнительного назначения препарата Траумель С у пациентов, которым к общепринятому лечению (кеналог 40 в рубец, 1 раз в месяц в течение первых трёх месяцев) вводили препарат Траумель С под рубец (2 раза в неделю 6 инъекций и одна инъекция после 6 месяцев).
2. Установить особенности влияния дополнительного назначения препарата Траумель С на неблагоприятный исход, свидетельствующий о недостаточной эффективности лечения (клинические случаи наличия эритемы, возвышения рубца над уровнем здоровой кожи, неудовлетворенность лечением).
3. Оценить на основе общепринятых в доказательной медицине количественных результатов оценки терапевтического эффекта эффективность предлагаемого вмешательства.
4. Исследовать *in vitro*, на первичных культурах дермальных фибробластов человека, прямое воздействие препаратов кеналог и Траумель С, как каждого в отдельности, так и при со-

четанном их использовании – введением препарата Траумель С в ростовую среду после предварительного культивирования фибробластов в присутствии кеналога, последующей смены среды и этапа культивирования без какого-либо воздействия.

### Объект и методы исследования

Обследован 51 пациент: 25 пациентам изучаемой группы по сравнению с 26 пациентами контрольной группы дополнительно к общепринятому лечению (кеналог 40 в рубец, 1 раз в месяц в течение первых трёх месяцев) вводили препарат Траумель С под рубец 2 раза в неделю 6 инъекций и одна инъекция после 6 месяцев. Количественная оценка вмешательств проводилась через 6 и 12 месяцев.

За неблагоприятный исход, свидетельствующий о недостаточной эффективности лечения, принимали клинические случаи наличия эритемы, возвышения рубца над уровнем здоровой кожи, его плотность, а также неудовлетворенность лечением. Особое внимание обращали на проведение дифференциальной диагностики между рубцами.

Критерии включения: пациенты с келоидными рубцами, при отсутствии признаков хронической соматической патологии. Критерии исключения: нормотрофические, атрофические, гипотрофические и гипертрофические рубцы, заболевания печени, сердечно-сосудистой и эндокринной систем, кожные болезни и аллергические состояния.

Схема лечения: кеналог 40 в рубец, 1 раз в месяц (в течение первых трёх месяцев), Траумель С под рубец – 2 раза в неделю, 6 инъекций (в течение первых трёх месяцев) и одна инъекция после 6 месяцев наблюдения.

Дизайн – проспективное, рандомизированное, открытое, сравнительное контролируемое в параллельных группах клиническое исследование.

### Статистическая обработка и представление результатов оценки эффективности вмешательства

При оценке эффекта вмешательств использовали статистические программы Review Manager, а в них – четырехполь-

| Группы           | Исследуемый эффект (исход), случаи недостаточной эффективности |     |       |
|------------------|--|-----|-------|
|                  | Есть   | Нет | Всего |
| Исследуемая (I)  | A  | B   | A+B   |
| Контрольная (II) | C  | D   | C+D   |

Табл. 1. Таблица сопряженности

ные таблицы, которые позволяли вычислять взвешенные (относительно размера включенного в анализ исследования) величины относительных показателей и их доверительные интервалы. Статистическая значимость различий для проверки гипотезы о связи двух качественных признаков, в группах обследуемых, рассчитывалась непараметрическими методами критерия  $\chi^2$ -квadrата с поправкой Йетса или точного критерия Фишера (если в клетках таблицы сопряженности 2x2 числа меньше 5). При представлении результатов оценки вмешательств рассчитывали показатели, рекомендованные редакторами журналов Evidence-Based Medicine, ACP Journal Club, принятые в доказательной медицине (1, 2, 4, 5).

За неблагоприятный исход, свидетельствующий о недостаточной эффективности лечения, принимали клинические

случаи наличия эритемы, возвышения рубца над уровнем здоровой кожи, неудовлетворенность лечением. Составляли таблицу сопряженности, в которой приводили возможные неблагоприятные исходы, свидетельствующие о недостаточной эффективности фармакотерапии келоидных рубцов (табл. 1).

Затем рассчитывали рекомендованные ключевые показатели.

ЧИЛ – частота исходов в группе лечения A / (A+B).

ЧИК – частота исходов в контрольной группе C / (C+D).

СОР – (снижение относительного риска) – относительное уменьшение частоты неблагоприятных исходов в изучаемой группе по сравнению с контрольной группой, рассчитываемое как (ЧИЛ-

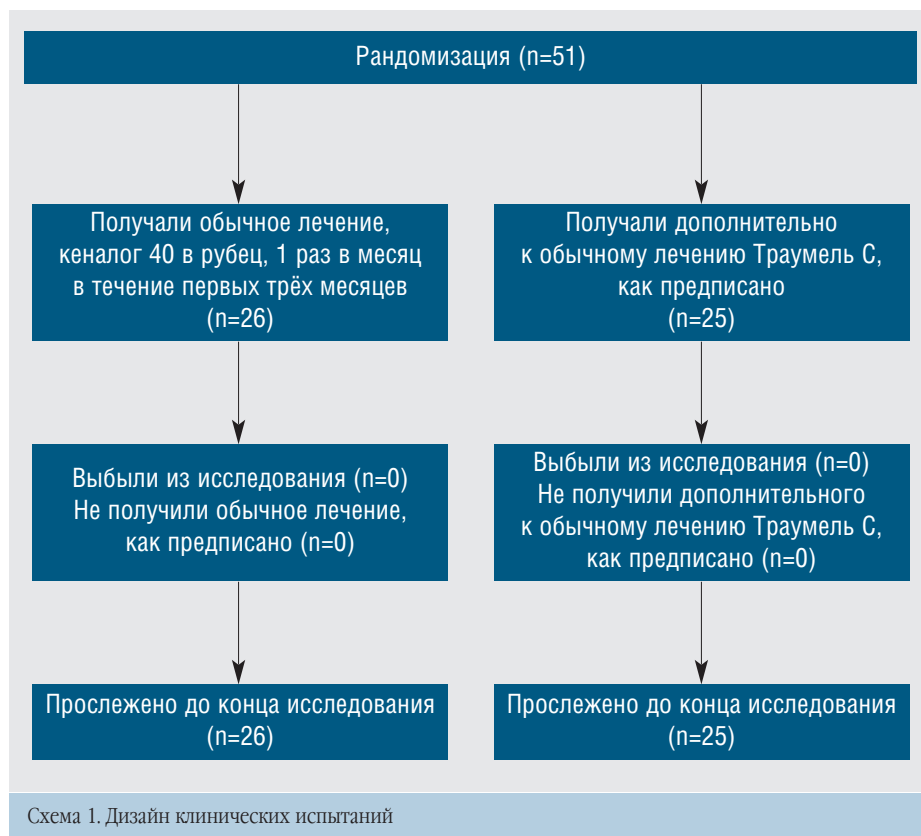


Схема 1. Дизайн клинических испытаний

ЧИК) / ЧИК. Значения более 50% всегда соответствуют клинически значимому эффекту, от 25 до 50% – очень часто соответствуют клинически значимому эффекту, приводится вместе с 95% ДИ.

ДИ – диапазон колебаний истинных значений в популяции. ДИ означает, что истинное значение величины с вероятностью в 95% лежит в пределах рассчитанного интервала.

САР – (снижение абсолютного риска) – абсолютная арифметическая разница в частоте неблагоприятных исходов между группами лечения и контроля. Рассчитывалось как ЧИЛ-ЧИК.

ЧБНЛ – число больных необходимо лечить определенным методом в течение определенного времени, чтобы предотвратить неблагоприятный исход у одного больного. Рассчитывали как 1 / САР.

ОШ – отношение шансов показывает, во сколько раз вероятность неблагоприятного исхода в основной группе выше (или ниже), чем в контрольной

(А/В)/(С/Д). Значения ОШ от 0 до 1 соответствовало снижению риска, более 1 – его увеличению. ОШ равное 1, означает отсутствие эффекта.

### Тестирование in vitro Траумель С и кеналога на первичных культурах дермальных фибробластов человека

Исследования in vitro на первичных культурах дермальных фибробластов человека выполнены на базе института экспериментальной медицины и биотехнологии Самарского государственного медицинского университета в лаборатории культивирования клеточных культур.

Для исследования непосредственного действия препаратов Траумель С и кеналог на фибробласты человека в культуре взяты лекарственные препараты: Траумель С (ампулы по 2,2 мл; производитель «Хеель», Баден-Баден) и кеналог (ампулы по 1 мл, содержание действующего вещества 40 мг/мл; производитель Bristol-Myers Squibb). Траумель С – бесцветный прозрачный раствор, кеналог – суспен-

зия белого цвета, частицы которой при стоянии оседают на дно.

Исследования выполнены на первичных культурах дермальных фибробластов человека 4–10 пассажа. Культуры дермальных фибробластов получали методом первичных эксплантатов из фрагментов кожи абортусов 8–10 недель гестации. Опыты осуществлялись методом прямого контакта. При посеве доза во всех случаях составляла 20 тысяч клеток/см<sup>2</sup> (2 x10<sup>4</sup>).

Контролем служили: 1. Чашки Петри с бессывороточной ростовой средой без исследуемого вещества и фибробластов. 2. Чашки Петри с полной ростовой средой без исследуемого вещества и фибробластов. 3. Чашки Петри с полной ростовой средой и образцами исследуемого вещества, в которые не высеивали фибробласты. 4. Чашки Петри с культурой фибробластов, которые пасировали и наблюдали одновременно с экспериментальными, но не подвергали никакому воздействию. Все работы проводили в ламинарном боксе (БАВп-01 «Ламинар-С»).

| Группы сравнения                                  | Показатели |             |               |               |                |                    |        |
|---|------------|-------------|---------------|---------------|----------------|--------------------|--------|
|   | ЧИЛ %      | ЧИК %       | СОР<br>95% ДИ | САР<br>95% ДИ | ЧБНЛ<br>95% ДИ | ОШ<br>95% ДИ       | Р      |
| <b>Наличие зритемы</b>                            |            |             |               |               |                |                    |        |
| І и ІІ, через 6 месяцев                           | 60         | 96          | 38<br>14–58   | 36<br>14–56   | 3<br>2–7       | 0,06<br>0,007–0,52 | <0,01  |
| І и ІІ, через 12 месяцев                          | 32         | 92          | 65<br>38–83   | 60<br>35–76   | 2<br>1–3       | 0,04<br>0,01–0,21  | <0,001 |
| <b>Возвышение рубца над уровнем здоровой кожи</b> |            |             |               |               |                |                    |        |
| І и ІІ, через 6 месяцев                           | 12         | 42          | 72<br>14–120  | 30<br>6–51    | 3<br>2–17      | 0,19<br>0,04–0,78  | <0,05  |
| І и ІІ, через 12 месяцев                          | 8          | 42          | 81<br>25–127  | 34<br>10–54   | 3<br>2–10      | 0,12<br>0,02–0,61  | <0,05  |
| <b>Плотность</b>                                  |            |             |               |               |                |                    |        |
| І и ІІ, через 6 месяцев                           | 20<br>9–39 | 35<br>19–54 | 42<br>28–106  | 15<br>1–36    | 7<br>3–10      | 0,47<br>0,06–0,76  | >0,05  |
| І и ІІ, через 12 месяцев                          | 8<br>2–24  | 35<br>19–54 | 77<br>11–134  | 27<br>4–47    | 4<br>2–26      | 0,16<br>0,03–0,86  | <0,05  |
| <b>Неудовлетворенность лечением</b>               |            |             |               |               |                |                    |        |
| І и ІІ, через 12 месяцев                          | 8<br>2–23  | 62<br>43–78 | 87<br>45–114  | 54<br>28–71   | 2<br>1–4       | 0,05<br>0,01–25    | <0,001 |

Табл. 2. Ключевые показатели эффекта вмешательства через 6 и 12 месяцев в группе пациентов, получавших изучаемое лечение (І) по сравнению с группой пациентов, получавших обычное (ІІ) лечение

По предложенному нами дизайну было проведено 3 группы экспериментов: в 1-й и 2-й группах изучали воздействие на культуру фибробластов в течение 5 суток каждого препарата в отдельности; в 3-й группе сначала культивировали фибробласты в течение 5 суток в присутствии препарата кеналог, затем производили смену среды и культивировали клетки без какого-либо воздействия 2 суток, после чего в ростовую среду вводили препарат Траумель С и продолжали культивирование еще 5 суток.

Нативную культуру изучали, морфометрировали и фотографировали с помощью инвертированного микроскопа "Биолам П-2-1" при увеличении 100 и 150 (окуляры 10 и 15, объектив 10). Ежедневно проводили визуальные наблюдения и морфометрию нативной культуры. Визуально оценивали целостность монослоя, наличие слущенных клеток в культуральной жидкости, форму и размеры клеток, структуру клеток (состояние цитолеммы, состояние цитоплазмы – наличие вакуолей, зернистости, наличие и состояние отростков, структуру ядра и ядрышек, положение ядра в клетке, количество ядер и ядрышек в клетках). Для определения количества поврежденных клеток в монослое считали 200 клеток в 5 полях зрения, из них отдельно учитывали поврежденные клетки. Фиксированные 4% раствором параформальдегида препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином, орсеином по Унна-Тенцеру. В нефиксированных клетках монослоя выявляли нейтральный жир суданом VI.

## Результаты исследования и их обсуждение

Количественные результаты оценки показателей, характеризующих эффект вмешательства изучаемого и обычного методов лечения представлены в табл. 2.

Как видно из приведенных в табл. 2 результатов исследований, у лиц, получавших изучаемое лечение, по сравнению с группой пациентов, принимавших обычное лечение, неблагоприятные исходы, свидетельствующие о недостаточной эффективности фармако-терапии келоидных рубцов, наблюдались статистически значимо реже. Высокие значения показателей CAP и COP характеризуют клиническую значи-

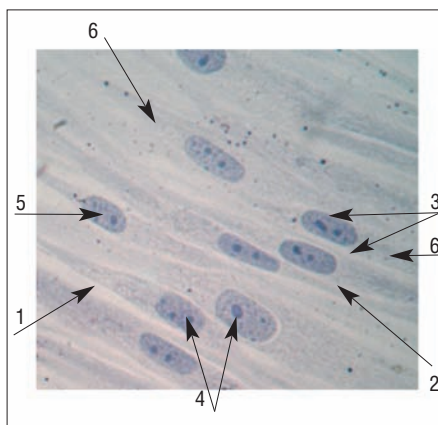


Рис. 1. Контроль. Окраска суданом IV. Ув. 400  
Культура фибробластов человека, 4 пассаж. Монослой, 5 дней после пересева. Клетки веретеновидной формы (1) имеют 2–5 отростков разной длины, которые анастомозируют между собой. Ядра правильной овальной формы, с гладкой ровной оболочкой (3), умеренно базофильные, с 1–2 крупными ядрышками (4). Хроматин в виде мелкой зернистости расположен в ядрах диффузно (5). Цитоплазма однородная или мелкозернистая (6). Капли нейтрального жира в цитоплазме отсутствуют

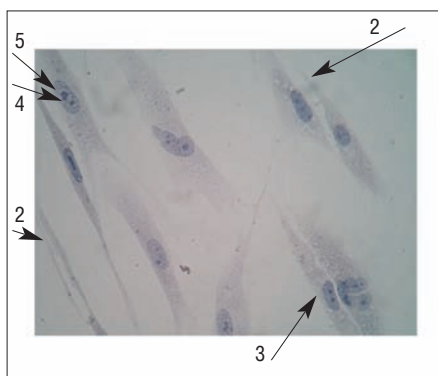


Рис. 3. Кеналог, 5 сут. Окраска суданом IV. Ув. 400  
Фибробласты разной формы и размеров: клетки веретеновидной формы единичные, в основном присутствуют клетки полигональной или треугольной формы (1). Структура цитоплазмы грубозернистая, много мелких вакуолей (4). Ядра в разных клетках резко отличаются по форме и размерам, расположены в периферической зоне клеток. Ядерная оболочка грубого рисунка. Много клеток с 2–3 ядрами разной формы и размеров, характерно наличие узур ядерной оболочки (3). Есть ядра с грубыми глыбками хроматина (5). Капли нейтрального жира при окраске суданом не выявляются. Отростки клеток разной толщины и формы (2)

мость полученных результатов. Показатели ЧБНЛ и ОШ позволяют утверждать, что при дополнительном назначении препарата Траумель С у каждого четвертого и пятого пациента может появиться возможность избежать неблагоприятного исхода при лечении келоидных рубцов как через 6, так и через 12 месяцев.

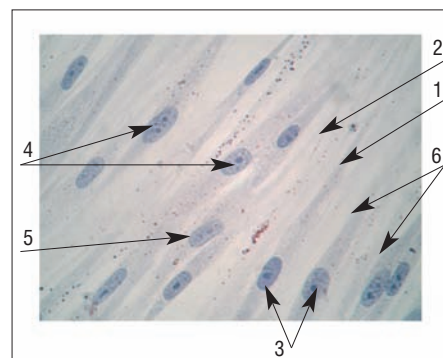


Рис. 2. Траумель С, 5 сут. Окраска суданом IV. Ув. 400

Картина в препарате практически не отличается от контроля. Клетки сохраняют веретеновидные формы (1), имеют 2–5 отростков разной длины (2), которые анастомозируют между собой. Ядра правильной овальной формы, с гладкой ровной оболочкой (3), умеренно базофильные, с 1–2 крупными ядрышками (4). Хроматин в виде мелкой зернистости расположен в ядрах диффузно (5). Цитоплазма однородная или мелкозернистая (6). Капли нейтрального жира в цитоплазме отсутствуют

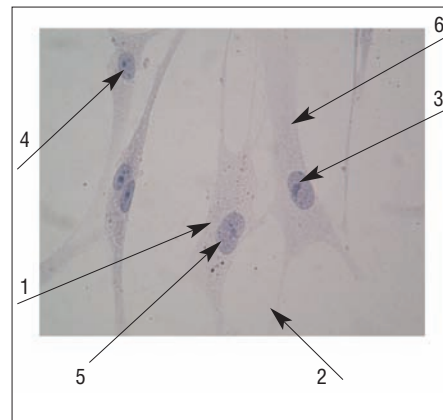


Рис. 4. Кеналог + Траумель С, 5 сут. Окраска суданом IV. Ув. 400

Применение после кеналога Траумель С, введенного в суспензию клеток, приводит в значительной степени к восстановлению морфофункционального состояния фибробластов в культуре. Так как плотность монослоя остается более низкой, чем в контроле, и при воздействии одного Траумель С, фибробласты сильно распластаны по дну культуральной чашки, в связи с чем поперечные размеры их больше, чем в контрольной культуре. Но клетки в этой культуре удлиненной формы (1), с тонкими отростками, количество которых не превышает шести (2). Не обнаруживаются клетки с деформированными ядрами, все ядра имеют гладкую ровную оболочку (3) и содержит 1–2 ядрышка (4). Цитоплазма отдельных фибробластов содержит единичные вакуоли, в основном цитоплазма клеток однородная или мелкозернистая (6). Включения нейтрального жира в цитоплазме не обнаруживаются

Результаты in vitro исследования прямого воздействия препаратов кеналог и Траумель С каждого в отдельности и эффекты воздействия Траумель С на фибробласты после предварительного их

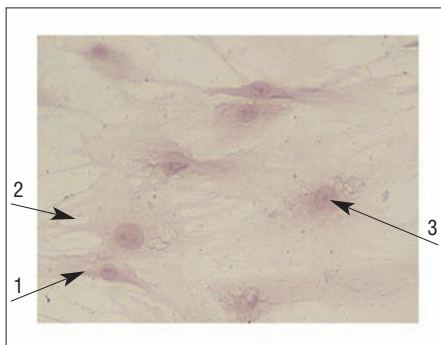


Рис. 5. Контроль. Окраска орсеином. Ув. 400  
При окраске орсеином хорошо выявляется густая сеточка коричнево-розового цвета, состоящая из тонких нитей коллагена, которая располагается как в цитоплазме клеток (1), так и между клетками (2). Сплетение нитей коллагена между телами клеток является составной частью внеклеточного матрикса. Наличие такой сеточки свидетельствует об активной коллагенсинтетической функции фибробластов в контрольной культуре. Ядра клеток с гладкой, ровной оболочкой (3)

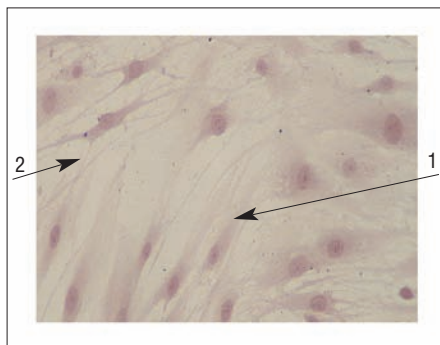


Рис. 6. Траумель, 5 сут. Окраска орсеином. Ув. 400  
При окраске орсеином в фибробластах после культивирования их в присутствии Траумель С хорошо выявляется сеточка коричнево-розового цвета, состоящая из нитей коллагена, которая располагается как в цитоплазме клеток (1), так и между клетками (2). Практически не отличаются от нормы. Сплетение нитей коллагена между телами клеток является составной частью внеклеточного матрикса

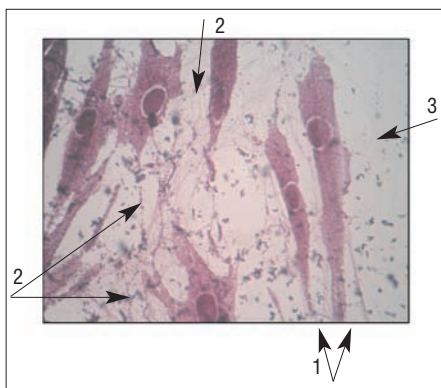


Рис. 7. Кеналог, 5 сут. Окраска орсеином. Ув. 400  
Нарушение формирования внеклеточного матрикса в культуре фибробластов: отростки фибробластов неравномерной толщины (1); нити коллагена тоже отличаются друг от друга по толщине и на разных участках культуральной чашки образуют сеточку разной густоты (2); есть «пустые» участки (3)

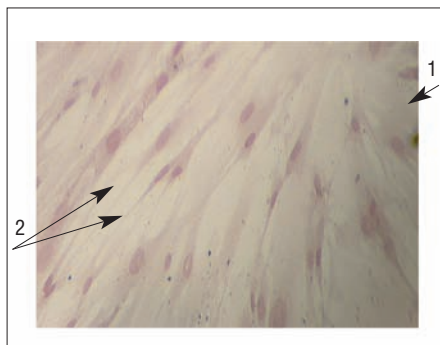


Рис. 8. Кеналог + Траумель С, 5 сут. Окраска орсеином. Ув. 400  
Применение после кеналога Траумель С, введенного в суспензию клеток, приводит в некоторой степени к восстановлению морфофункционального состояния фибробластов в культуре, в частности, их коллагенсинтетической функции. Хорошо выявляется редкая сеточка коричнево-розового цвета, состоящая из нитей коллагена, которая располагается как в цитоплазме клеток (1), так и между клетками (2). Нити коллагена несколько толще, чем в норме. Полей, полностью лишенных внеклеточного матрикса, не обнаружено

культивирования в присутствии кеналога, демонстрируются рис. 1, 2, 3, 4 (окраска орсеин) и 5, 6, 7, 8 (окраска судан VI).

Как видно из приведенных рисунков, обнаруживается очевидная однонаправленная зависимость. Введение кеналога приводит к нарушению формирования внеклеточного матрикса в культуре фибробластов через 5 суток. Траумель С, введенный в суспензию клеток после кеналога, в значительной степени демонстрирует заметное восстановление морфофункционального состояния фибробластов. Иными словами, установлен неизвестный ранее факт прямого воздействия препарата Траумель С на

клеточном уровне, заключающийся в модуляции морфофункционального состояния фибробластов человека.

Результаты клинико-экспериментальной оценки эффективности дополнительного назначения препарата Траумель С открывают перспективу для включения данного комплексного антигемотоксического средства в схемы лечения келоидных рубцов.

### Выводы

1. В процессе проспективного, рандомизированного, открытого контро-

лируемого, сравнительного в параллельных группах исследования показаны эффективность и целесообразность дополнительного назначения препарата Траумель С для предотвращения неблагоприятных исходов, характеризующих недостаточную эффективность фармакотерапии келоидных рубцов.

2. Исследования *in vitro* на первичных культурах дермальных фибробластов человека в присутствии препарата кеналог обнаружили нарушение формирования внеклеточного матрикса в культуре фибробластов через 5 суток.
3. Исследования *in vitro* на первичных культурах дермальных фибробластов человека в присутствии препарата Траумель С показали, что в этих условиях фибробласты практически не страдают, продолжая образовывать сплетения коллагена и способствуя нормальному физиологическому функционированию внеклеточного матрикса.
4. Введение в суспензию клеток после кеналога препарата Траумель С в значительной степени приводило к восстановлению морфофункционального состояния фибробластов в культуре клеток.

### Литература

1. Власов В.В. Введение в доказательную медицину. – М.: Медиа Сфера, 2001. – 392 с.
2. Котельников Г.П., Шпигель А.С. Доказательная медицина. Научно-обоснованная медицинская практика: Монография. – Самара: СамГМУ, 2000. – 116 с.
3. Марьяновский А.А. Современная гомеопатия: признание официальной наукой // Биологическая медицина.–1998. – С. 16–26.
4. Шпигель А.С. Доказательная медицина. Перспективы для гомеотоксикологии. Монография. М.: Арнебия, 2004. – 224 с.
5. Шпигель А.С. Оценка эффективности антигемотоксической фармакотерапии в соответствии с принципами доказательной медицины // Биологическая медицина. –2002. – № 2. – С. 56–64.
6. Озерская О.С. Рубцы кожи и их дерматокосметологическая коррекция. – СПб.: «Искусство России», 2007. – 227 с.
7. Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, Hobbs FD et al. International Advisory Panel on Scar Management. International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 50–71

### Адрес автора

Шпигель А.С., д.м.н., профессор  
Зав. кафедрой клинической фармакологии и гомеопатии ИПО СамГМУ  
443110, Самара, ул. Ново-Садовая,  
13–14