

# ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616-036.12

Е.А. Леонтьев

E-mail: zanei@yandex.ru

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИРУДОТЕРАПИИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АУТОДЕРМОПЛАСТИКИ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

МУЗ «Городская клиническая больница №1»,  
г. Чебоксары

Большая социальная значимость сахарного диабета (СД) состоит в том, что он приводит к ранней инвалидизации. Риск развития ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда увеличивается в 2 раза, патологии почек – в 17 раз, гангрены нижних конечностей – в 20 раз [1]. Сравнительный анализ частоты ампутаций показал, что ампутации нижних конечностей у больных СД проводятся в 17-45 раз чаще, чем у лиц, не страдающих диабетом. Однако частота поражений периферических артерий у пациентов с СД встречается лишь в 4 раза чаще [1, 2, 8, 9, 11]. Развитие гнойно-некротического процесса на фоне диабетической стопы более чем в 50-75% случаев приводит к нетравматическим ампутациям [1]. Эпидемиологические исследования показали, что 6-30% больных СД после первой ампутации подвергаются ампутации второй конечности в течение 1-3 лет, через 5 лет – 28-51% [1]. Все приведенные данные свидетельствуют о нерешенности этой проблемы и целесообразности дальнейшей разработки новых тактических подходов к лечению этой категории больных для снижения частоты инвалидизации и летальности. СД не только значительно ухудшает качество жизни больного, но и является важным патогенетическим звеном формирования синдрома диабетической стопы (СДС) [1, 8, 11]. Для успешного лечения гнойно-некротических осложнений СДС недостаточно воздействовать на какой-либо один патогенетический механизм [2, 9]. Необ-

ходим комплексный подход. При этом назначение большого количества лекарственных средств зачастую приводит к полипрагмазии. В связи с этим актуален поиск новых эффективных методов, позволяющих без существенной медикаментозной нагрузки воздействовать на возможно большее число патогенетических звеньев формирования СДС. Есть основания считать, что к числу таких методов относится гирудотерапия [4, 5, 7, 10]. Его биологические эффекты патогенетически адекватны практически всем механизмам развития СДС [4, 5].

Целью работы явилось исследование влияния гирудотерапии на результаты аутодермопластики у животных с экспериментальным сахарным диабетом.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для проведения эксперимента были использованы 40 белых беспородных крыс-самцов. В ходе эксперимента животные были разделены на 2 группы (группы сравнения и эксперимента). Животным произведено моделирование экспериментального сахарного диабета по методике Кулешова Е.В. На 21-е сутки всем животным проведена операция. Техника операции была одинаковой во всех группах. Под эфирным наркозом в области спины параллельно продольной оси тела лезвием бритвы снимали свободный расщепленный кожный лоскут в виде островковой пластинки (1 см<sup>2</sup>) толщиной 0,3-0,4 мм с последующей аутодермопластикой. После биопсии рана не ушивалась и рассматривалась как открыто инфицированная. После операции 0,2 %-ная мазь на основе «Пиявита» вводилась в состав лечебных повязок у животных группы исследования [3, 6, 7]. У животных группы сравнения мазь «Пиявит» заменена на 1%-ную фурациллиновую мазь. Начиная со 3-го дня после введения аллоксана, животным групп сравнения и эксперимента ежедневно вводился инсулин 3-4 ед. п/к. При наличии признаков дегидратации и кетоацидоза (вялость животного, неактивное поведение, суженная глазная щель, резко положительная реакция на кетоны в моче) доза инсулина увеличивалась до 5-7 ед. п/к. Содержание глюкозы в сыворотке крови измеряли дважды – перед нанесением раны и в день забоя с использованием одноразового набора реактивов «Глюкоза-Ольвекс». Забор крови для исследования производили из кончика хвоста. Содержание глюкозы и кетонов в моче определяли с помощью тест-полосок «ИГ-индикатор глюкозы». Забор крови для исследования производили из кончика хвоста перед нанесением раны и на 3-и, 7-е и 14-е сутки после нанесения раны. Материал для гистологического исследования был взят на 4, 7, 14, 21, 28-е сутки после аутодермотрансплантации с фиксацией в 12%-ном растворе формалина и последующей заливкой парафином. Серийные депарафинированные срезы толщиной 7-8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизон и орсеином. Гистологические препараты изучали на

Цейсовском микроскопе «Standart 25». Полученные биоптаты ран фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезвоживали, обезжировали и заливали в парафин по стандартной методике. Депарафинированные гистологические срезы окрашивали гематоксилином-эозином с использованием стандартных рецептурных прописей. Для измерения площади раны на цифровую фотография раны между статичными ориентирами накладывали шкалу с последующей компьютерной обработкой данных.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 4-е сутки в аутотрансплантате у животных группы сравнения в отдельных местах наблюдался распад эпидермиса и отслойка его с сохранением лишь базального слоя. Сосочковые и сетчатые слоя дермы инфильтрированы лейкоцитами, имеется множество небольших кровоизлияний. Капилляры полнокровны, расширены, с явлениями стаза. Волосяные фолликулы атрофированы. В сетчатом слое дермы лейкоцитарная реакция выражена умеренно. В пограничной с трансплантатом области определялись небольшие кровоизлияния в состоянии резорбции и лизиса. При воздействии мази «Пиявит» ткань ауто-трансплантата отличалась лучшей сохранностью эпидермиса и развитостью микроциркуляторного русла. Лейкоцитарная инфильтрация была значительно менее выражена. Ткань трансплантата была вполне жизнеспособной и содержала в себе все составные части. В сосочковом слое дермы преобладали клеточные элементы и большое количество капилляров. Жировая ткань подкожной клетчатки имела обычное строение. Пограничная ткань кожи реципиента была изменена и имела неравномерную толщину. За счет отслойки блестящий слой и слой роговых чешуек часто отсутствовал. Поперечно-полосатая мышечная ткань была с реактивными изменениями в виде отека волокон. На 7-е сутки у животных группы сравнения в области ауто-трансплантата в эпидермисе определялись участки некроза. Сосочковые и сетчатые слоя дермы инфильтрированы лейкоцитами, множество небольших кровоизлияний, периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация. Поперечно-полосатая мышечная ткань была с реактивными изменениями в виде умеренного межучного отека волокон. При воздействии мази «Пиявит» к 7-м суткам отмечалась лучшая сохранность эпидермиса, меньшая степень выраженности воспалительных изменений, в том числе лейкоцитарной инфильтрации, определялись более развитые элементы микроциркуляторного русла и более крупные сосуды во всех слоях дермы и подкожной клетчатки, соединительная ткань. Эпидермис на границе с тканью реципиента был хорошо развитым. На 14-е сутки в группе животных в области центральной части ауто-трансплантата отмечался участок гомогенной ткани, являющийся, по-видимому, результатом отслойки и некроза эпидермиса. При воздействии мази «Пиявит» в области трансплантата к 14-м суткам эпидермис в

основном сохранялся. В отличие от группы сравнения следует отметить отсутствие выраженных воспалительных изменений, представленных лишь пограничной лейкоцитарной инфильтрацией, активное развитие элементов микроциркуляторного русла и сохранность более крупных сосудов, а также активную регенерацию эпидермиса. В сосочковом слое дермы определялось множество капилляров, некоторые из них были расширенными, с явлениями стаза и бывшими кровоизлияниями в виде организуемого фибринового сгустка. Поперечно-полосатая мышечная ткань сохраняла признаки жизнеспособности. На 21-е сутки у животных группы сравнения в области послеоперационного поля эпидермис полностью отсутствовал, отмечались очаговые и диффузные лейкоцитарные инфильтраты. Инфильтрат состоял из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов (в том числе и многоядерных), периваскулярных инфильтратов, участков распада и лизиса. Корни волос были с различными проявлениями разрушения, дистрофии. Лейкоцитарные инфильтраты в сетчатом слое дермы и клетчатке пронизывали трансплантат на значительном расстоянии, вплоть до мышечной ткани. При воздействии мази «Пиявит» на 21-е сутки после операции на большей части поверхности трансплантата многослойный плоский неороговевающий эпителий был сохранен. Непосредственно в области контакта ткани реципиента и трансплантата отмечались гемодинамические расстройства в виде кровоизлияний и периваскулярных инфильтратов. Нарушений микроциркуляции зарегистрировано не было. В центре трансплантата дефект был заполнен грануляционной тканью. Ткань была обильно васкуляризирована. Была выявлена меньшая степень выраженности деструктивных и воспалительных изменений в тканях. Наблюдались хорошая регенерация и жизнеспособность эпидермиса. После воздействия мази «Пиявит» на 28-е сутки почти вся раневая поверхность была покрыта эпидермисом. Отдельные участки, лишённые эпителия, активно регенерировались. Местами эпителий, сначала состоящий из одного слоя уплощенных эпителиальных клеток, становился многослойным и приобретал все типичные для нормального эпидермиса слои. Сосочковый и сетчатый слои состояли в основном из пучков коллагеновых волокон. Ткань была очень хорошо васкуляризирована капиллярами, артериолами, венами, венами. Лейкоцитарные инфильтраты вокруг сосудов были крайне редки. Образовывались новые многочисленные волосные фолликулы. Жировые клетки, богатые сосудами, встречались островками. В прилежащих к месту трансплантации участках эпидермиса и дерма имели обычное строение.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные демонстрируют, что гирудотерапия даёт выраженный и быстрый клинический эффект. Мазь «Пиявит» снижает выраженность воспалительной реакции, ускоряет начало

контракции раны. К особенностям положительного влияния мази «Пиявит» следует отнести активную регенерацию эпидермиса, меньшую выраженность структурных изменений кожи, воспалительной реакции (слабая диффузная и очаговая лейкоцитарная инфильтрация), более активное развитие элементов микроциркуляторного русла.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Дедов И. И. и др. Диабетическая стопа. – М.: Практическая медицина, 2005. – 197 с.
2. Дедов И. И. и др. Экономические проблемы сахарного диабета в России // Сахарный диабет. – 2000. – № 3. – С. 56-58.
3. Инструкция по медицинскому применению препарата Пиявит® мазь для наружного применения 0,2%. Научно-внедренческая фирма «Гируд И.Н.» лицензия № 009941 Министерства здравоохранения РФ.
4. Исаханиян Г.С. // Пути реализации лечебного эффекта.// ГИРУДО-2003. – 2003. – С. 21-22.
5. Каменев Ю.А. // Пиявки (гирудотерапия). – 2-е изд. – С-П., 2003. – 104 с.
6. Крашенюк С.В. и др. // Российское агентство по патентам и товарным знакам. Приоритет от 14.03.1996, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20.01.2000. (Доступен по URL <http://www.fips.ru>).
7. Пат. 2144698 Россия. Способ моделирования влияния медицинской пиявки на стимуляцию роста нервных волокон в культуре ткани / Крашенюк А.И., Крашенюк С.В., Чалисова Н.И. // Российское агентство по патентам и товарным знакам. Приоритет от 14.03.1996, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 20.01.2000. (Доступен по URL <http://www.fips.ru>).
8. Прихожан В. М. Поражение нервной системы при сахарном диабете (Основы нейродиабетологии) / АМН СССР. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1981. – 88 с.

9. Смирнова В. Ю. Дистальная диабетическая нейропатия: (Патогенез, диагностика, лечение): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1997.
10. Фисталь Э.Я. и др. Гирудотерапия в комплексном лечении острых флеботромбозов и их последствий у обожжённых. // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2002. – Том 3, № 1. – С. 42-47.
11. Юшков П. В. Синдром диабетической стопы // Новый медицинский журнал. – 1998. – № 3. – С. 2-6.

**STUDYING EFFICACY OF HIRUDOTHERAPY AS ASSESSED BY RESULTS OF AUTODERMOPLASTY IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS ANIMALS**

**Ye.A. Leontyev**

**SUMMARY**

Comparative assessment was performed on rats aimed at studying influence of «Piyavit» liniment on wounds healing. Gauze bandages which were moistured by this liniment were used in preoperative period. The efficacy of the liniment was established which was expressed by decreased terms of preoperative preparation, improved short- and long-term results. The liniment «Piyavit» is demonstrated to decrease cellular infiltration of wounds, accelerates forming granulating tissue which contributes to accelerated healing of wounds as compared to controls.

**Key words:** diabetes mellitus, neuropathic ulcers, hirudotherapy.