

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛУБОКОГО ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА У КРЫСЯТ

Глуткин А.В., Чилимцев А.М.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно

Актуальная и важная проблема в структуре детского травматизма является термическая травма. Среди всех пациентов с термическими травмами удельный вес детей варьирует от 13,8 до 75,3 %, а летальность достигает 2,4 - 10 % (2). Данная ситуация в значительной степени объясняется сложностью и многообразием её патогенетических механизмов в детском возрасте, лежащих в основе развития, течения и исхода тяжёлых ожогов, что обуславливает поиск и разработку новых методов диагностики и лечения данной патологии, используя различные варианты её моделирования на лабораторных животных.

Известны различные методики воспроизведения термических ожогов с использованием разнообразных устройств, для моделирования ожоговой поверхности у лабораторных животных. Так, используются различные этиологические факторы: нагревательный элемент, состоящий из рукоятки и медного наконечника круглой формы диаметром 2 см и толщиной 1 см (6) с помощью монетки разогретой над пламенем спиртовки (3), металлической пластиной нагретой до 100 °С (5), воздействие медной гребёнки подогретой в воде при 100 °С в течении 5 минут с последующим воздействием на кожу животного 3 минуты (9) и др. Однако, известные модели не учитывают анатомо-физиологические особенности детей младшего возраста и этиологию получения термического ожога, поэтому предлагаемые модели нельзя использовать для моделирования термического ожога у крысят.

Целью нашего исследования является разработка методики моделирования глубокого термического ожога у крысят.

Методы. Экспериментальное моделирование осуществлялось на беспородных белых крысятах в возрасте 30 суток, со средней массой 55-65 г, n = 7. Все животные содержались в одинаковых условиях вивария, на стандартном

пищевом режиме. Все этапы исследования проводились с разрешения комиссии по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол №1 от 11.01.2011).

В операционных условиях лабораторное животное фиксировалось на операционном столе. Тиопентал натрия (50 мг/кг) вводили внутривенно, затем производили удаление шерсти (выстригание с последующим выбриванием) со спины крысы.

Специально разработанным устройством (7) в течение 10 сек моделировали глубокий термический ожог кожи горячей жидкостью (вода) 99-100 °С. Ее площадь составляет около 8-9 % от всей поверхности тела. Для расчета её значений у крысы использовали формулу, предложенную Меех (8): $S = k \times W^{2/3}$, где S — поверхность тела, $см^2$, W — масса тела животного, кг, k — константа Миха (9,46). Материалом для морфологических исследований были полоски ткани размером 1,5 x 0,5 см, включающие центральную часть ожоговой раны и её край с прилежащей кожей, на 3 сутки от момента получения ожога, с одновременным выведением крысят из эксперимента (7 особей). Макропрепарат фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, проводили обезвоживание, парафиновую заливку. Гистологические срезы толщиной 6-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (1). Полученные гистологические препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа LeicaDM 1000, камерой PanasonicWV-CP 410/6, увеличение камеры в 40 раз.

Результаты исследования. В результате моделирования получались стандартные по площади (около 12 $см^2$) ожоговые раны у экспериментального животного. После нанесения травмы, крепили предохранительную камеру (4), которая обеспечивала защиту ожоговой ране от воздействия внешних факторов (рисунок 1).

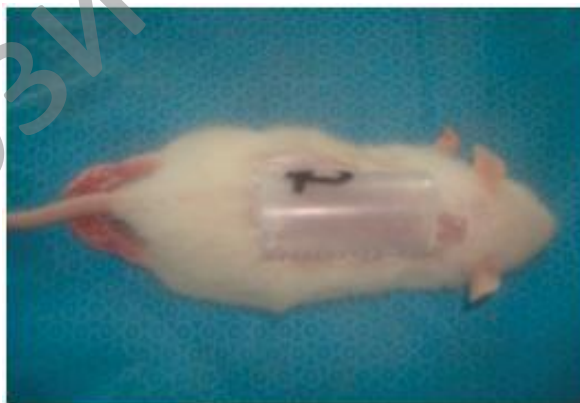


Рис. 1. Предохранительная камера, фиксируемая на экспериментальном животном

Результаты морфологического исследования показали, что через 3 сутки после ожога на коже спины у крысят наблюдается рана прямоугольной формы размером около 2,7 x 4,0 см с неровными краями. Её поверхность покрыта струпом с выступающими волосяными стержнями, иногда преимущественно в

её центре имеются участки размягчения и отслоения струпа со скоплением под ними серозно-гнойного экссудата, у одного животного часть поверхности раны (до 1/4 площади) была лишена струпа.

Изучение гистологических препаратов показывает, что на большинстве участков раневой поверхности наблюдается коагуляционный некроз всех слоев кожи, а также волокон подкожной мышцы, проксимальнее которой располагается зона отека и воспалительной инфильтрации. Вместе с этим, непосредственно у края раны некроз захватывает только эпидермис и сетчатый слой дермы, а в центральных областях раневой поверхности некротизированы все ткани до уровня поверхностных слоев подлежащих мышц включительно.

Цитоплазма клеток базального и шиповатого слоёв эпидермиса оксифильна, ядра пикнотичны, также как и в клетках волосяных фолликулов. В матриксе анагенных фолликулов отсутствуют митотические фигуры. Ядра клеток сальных желез гиперхромны или резко отечны, цитоплазма оксифильна, вакуолизирована. Коллагеновые пучки дермы набухшие, окрашены резко оксифильно, между ними лежат пикнотичные ядра фибробластов (рисунок 2.).

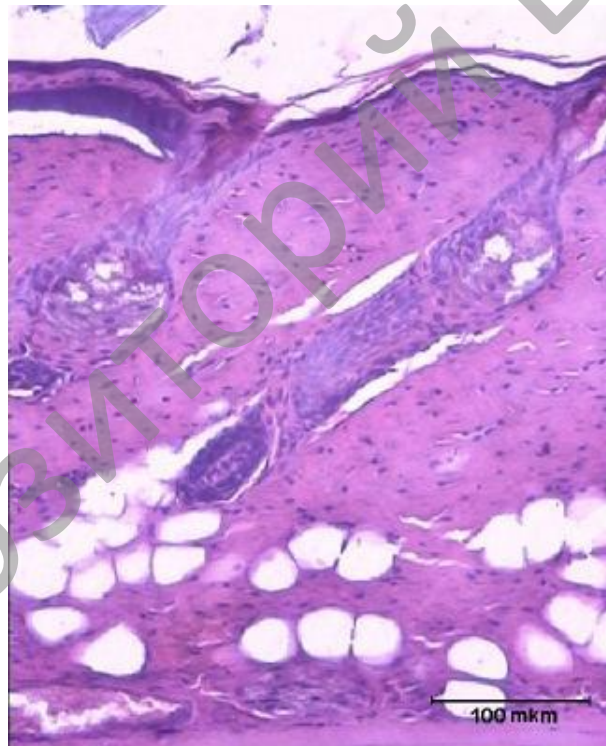


Рис. 2. Коагуляционный некроз всех слоев кожи, 3 сутки после ожога. Окраска гематоксилином и эозином. Об. х 10

В сосудах подкожной жировой клетчатки наблюдается стаз эритроцитов или тромбозы, нередко кровоизлияния в подкожную жировую прослойку. Мышечные волокна подкожной мышцы лишены ядер (или ядра-тени), почти во всех их длине наблюдаются контрактурные изменения миофибрилл или очаги глыбчатого распада цитоплазмы. Наблюдается отек, а также круглоклеточная и

нейтрофильная инфильтрация рыхлой соединительной ткани, лежащей под подкожной мышцей. Зона реактивного воспаления (лейкоцитарный вал) на большей части раневой поверхности располагается в поверхностных слоях подлежащих мышц, в центральных участках раны демаркационная зона проходит между поверхностными и глубокими слоями подлежащих мышц (рисунок 3).

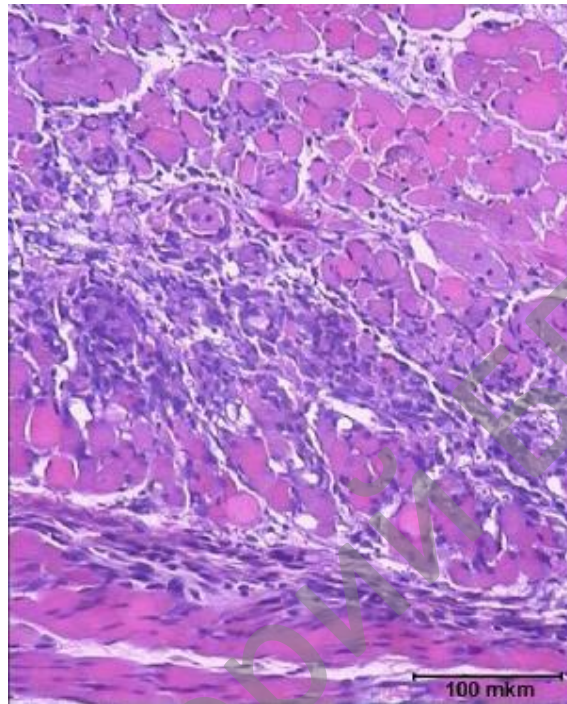


Рис.3. Зона воспалительной инфильтрации, 3 сутки после ожога.
Окраска гематоксилином и эозином. Об. х 10

В данной зоне наблюдается обильная круглоклеточная инфильтрация (макрофаги, лимфоциты), нередко встречаются нейтрофильные лейкоциты. Между клетками инфильтрата располагаются фрагменты мышечных волокон с отечными ядрами и гомогенной цитоплазмой. Мышечные волокна, лежащие глубже зоны воспалительной инфильтрации, имеют обычную структуру.

Из рисунка 4 видно, что под струпом на границе с нормальной по строению тканью наблюдаются эпидермальные разрастания, источником которых служат сохранившиеся проксимальные отделы волосяных фолликулов и сальные железы.

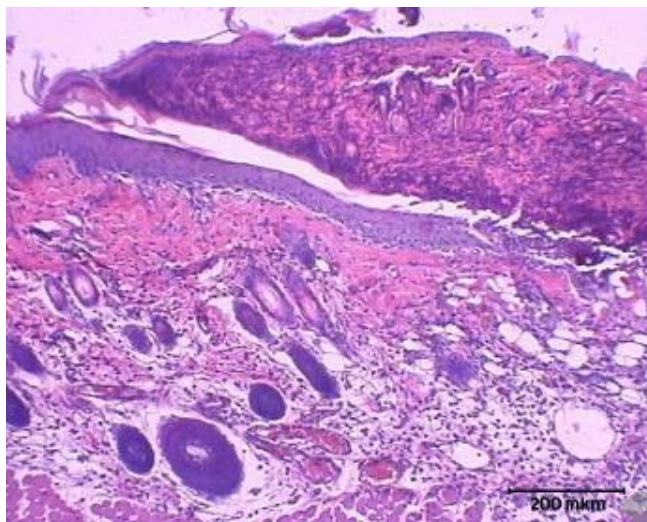


Рис.4. Край ожоговой раны, через 3 сутки после ожога.
Окраска гематоксилином и эозином. Об. х 4

Выводы:

Таким образом, в результате воздействия горячей жидкости (вода) температурой 99-100 °С в течение 10 сек с помощью специально разработанного устройства у крысят возникает глубокий ожог кожи спины заданной величины около 12 см², что составляет около 8-9 % от общей площади животного. На 3 сутки от момента развития ожога отмечается образования струпа с участками размягчения, а так же и его отслоение со скоплением под ними серозно-гнойного экссудата. Морфологический анализ показывает, что наблюдается коагуляционный некроз всех слоев кожи, но у края раны некроз захватывает только эпидермис и сетчатый слой дермы, а в центре раневой поверхности некротизированы все ткани до уровня поверхностных слоев подлежащих мышц.

Таким образом, предложенная методика может быть использована для осуществления моделирования глубокого термического ожога на крысятах и разработки различных путей коррекции данного патологического состояния.

Литература

1. Волкова, О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. - 2-е изд. - М.: Медицина, 1982. - 304 с.
2. Летальность при термических поражениях у детей: состояние, причины и пути её снижения / Л.И. Будкевич [и др.] // Рос. вест. перенатол. и педиатр. - 2004. - Том 49, № 4. - С. 51-54.
3. Маханьков, О. Динамика морфологических изменений ожоговой раны кожи после аппликации с экстрактом эмбриональной ткани печени и воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения (экспериментальное исследование) / О. Маханьков, В. Сумеркина // Вестник ОГУ - 2006. - № 12. - С. 143-145.

4. Предохранительная камера для экспериментального исследования ожоговой раны у лабораторного животного: пат. 7926 Респ. Беларусь, А.В. Глуткин, Т.В. Ковальчук, В.И. Ковальчук ; заявитель Гродн. гос. мед. ун-т - № u 20110577 ; заявл. 15.07.11 ; опубл. 28.02.12. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2012. – № 1. – С. 256-257.

5. Сравнительное изучение процесса заживления ожоговой раны, показателей иммунитета и патоморфологии лимфоидных органов у крыс с ожоговой болезнью при трансплантации культивированных аллофибробластов / Ш.Х. Мамадалиев [и др.] // Вес. экстренной мед. – 2009. – № 2. – С. 61–65.

6. Устройство для моделирования ожоговой поверхности у лабораторных животных: пат. 6698 Респ. Беларусь, В.Д. Меламед, П.С. Бурькин, А.В. Киркицкий ; заявитель Гродн. гос. мед. ун-т - № u 20100277 ; заявл. 19.03.10 ; опубл. 30.10.10. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2010. – № 5. – С. 242.

7. Устройство для моделирования ожоговой раны у лабораторного животного: пат. 7927 Респ. Беларусь, А.В. Глуткин, Т.В. Ковальчук, В.И. Ковальчук ; заявитель Гродн. гос. мед. ун-т - № u 20110576 ; заявл. 15.07.11 ; опубл. 28.02.12. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2012. – № 1. – С. 256.

8. Gilpin, D.A. Calculation of a new Meeh constant and experimental determination of burn size / D.A. Gilpin // Burns. – 1996. – Vol. 22, № 8. – P. 607–611.

9. The Homeostatic Efficacy of ANKAFERD after Excision of Full Thickness Burns: A Comparative Experimental Study in Rats / Y. Coban [et al.] // Surgical Science. – 2011. – № 2. – P. 16–21.