

НОВЫЙ СПОСОБ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ КОЖИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ, ОТВЕЧАЮЩИЙ ПРИНЦИПАМ GOOD LABORATORY PRACTICE (НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ)

[А. Е. Пахомова, Ю. В. Пахомова, Е. Е. Пахомова](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Цель и задачи исследования: разработать способ экспериментального моделирования термических ожогов у лабораторных животных и устройство для измерения их площади, отвечающие требованиям Надлежащей лабораторной практики — Good Laboratory Practice. *Выводы.* Предлагаемые «Способ экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных» и «Устройство для измерения площади поверхностных дефектов кожи» могут найти применение в экспериментальной и клинической медицине, а также в ветеринарии для моделирования поверхностных термических ожогов кожи у лабораторных животных на этапах доклинических исследований противоожоговых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: термические ожоги кожи, противоожоговые лекарственные препараты, площадь ожоговых ран, экспериментальное моделирование, инфракрасное излучение, Надлежащая лабораторная практика, Good Laboratory Practice.

Пахомова Ангелина Евгеньевна — член студенческого научного общества кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: pakhomova2000@rambler.ru

Пахомова Юлия Вячеславовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 229-10-82, e-mail: pakhomova2000@rambler.ru

Актуальность. В России ежегодно регистрируется более 600 тыс. случаев ожоговой травмы, при этом у 60–80 % пострадавших имеются поверхностные ожоги II и IIIa степени, что обуславливает актуальность разработки новых способов экспериментального моделирования данной патологии, измерения площади ожоговых ран и способов их лечения [1].

Известно много способов экспериментального моделирования термических ожогов у лабораторных животных, например с помощью горячего воздуха, нагретого электрофеном «BOSCH GHG 650 LCE» до температуры 500 °C [2], медной пластины, нагретой лазером «Лазермед 10-01» до температуры 220 °C [3], стеклянной пробирки с горячей водой, нагретой до температуры 100 °C [4].

Недостатками известных способов моделирования термических ожогов является невозможность нанесения стандартного ожога одной и той же площади, выраженной в абсолютных (см²) и в относительных (процент от всей площади поверхности тела) единицах, изменения площади и глубины ожога, проведения измерения и измерения площади и глубины ожога, нанесения ожога на плоские и неплоские участки тела. Выявленные недостатки известных способов моделирования термических ожогов не позволяют применять традиционные экспериментальные модели на этапах доклинических исследований противоожоговых лекарственных препаратов, поскольку их техническое решение противоречит требованиям Надлежащей лабораторной практики — Good Laboratory Practice [5].

Для оценки эффективности лечения необходимо устройство для измерения площади ожоговых ран. Разработано много устройств и способов для определения площади поверхностных дефектов кожи, в том числе ожоговых ран, например, с помощью миллиметровой бумаги [6], стерильной прозрачной целлофановой пленки [7], прозрачной пленки с нанесенной на нее лазерной разметкой [8].

Недостатками вышеописанных устройств и способов для определения площади поверхностных дефектов кожи, в том числе ожоговых ран, является использование непрочного материала, непосредственный контакт измерительного устройства с раной, отсутствие в конструкции каркаса с рукояткой, что не позволяет прижимать устройства к коже за пределами измеряемых дефектов и фиксировать их в таком положении. Выявленные недостатки известных устройств и способов для определения площади поверхностных дефектов кожи, в том числе ожоговых ран, не позволяют применять их на этапах доклинических исследований противоожоговых лекарственных препаратов, поскольку предложенные технические решения противоречат требованиям Надлежащей лабораторной практики — Good Laboratory Practice [9].

Цель и задачи исследования: разработать способ экспериментального моделирования термических ожогов у лабораторных животных и устройство для измерения их площади, отвечающие требованиям Надлежащей лабораторной практики — Good Laboratory Practice.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на крысах линии Вистар

в возрасте 2,5–3 месяца, полученных в виварии Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета. Для отработки параметров экспериментальной модели было использовано 5 крыс, каждой из которых наносили по два термических ожога (на левое и правое бедро).

Минимальный вес крыс составил 237 г, максимальный — 340 г, средний вес крыс составил — $285,2 \pm 5,1$ г. Площадь поверхности тела животных вычисляли по весу (массе) животного с помощью формулы Мееубнера [9]:

$$S = 11,4 W^{\frac{2}{3}},$$

где W — масса животного в г, S — поверхность тела в см^2 .

Таким образом, минимальная площадь поверхности тела экспериментальных животных составила $436,59 \text{ см}^2$, максимальная — $555,34 \text{ см}^2$, средняя — $493,94 \text{ см}^2$.

Известно, что площадь ожоговых ран можно измерять как в абсолютных величинах (см^2), так и в относительных величинах (процент от общей поверхности тела экспериментального животного).

Абсолютную площадь ожоговых ран измеряли в эксперименте с помощью авторского «Устройства для измерения площади поверхностных дефектов кожи», которое представляет собой прозрачное органическое стекло (полиметилметакрилат) толщиной 5 мм с нанесенной на него разметкой. Разметка на органическом стекле была нанесена методом лазерной гравировки с помощью твердотельного лазера «МиниМаркер М 10» (производитель ООО «Лазерный центр», Россия). Разметка имеет форму круга диаметром 75 мм, внутри которого встроен квадрат с длиной стороны 40 мм. Квадрат разделен на ячейки размером 10×10 мм. Каждая ячейка 10×10 мм разделена на ячейки размером 2×2 мм. Толщина линий разметки, ограничивающих ячейки размером 10×10 мм, составляет 0,35 мм, толщина линий разметки, ограничивающих ячейки размером 2×2 мм, составляет 0,2 мм. Органическое стекло с нанесенной на него лазерной разметкой вставлено в круглый пластмассовый каркас от увеличительной лупы высотой 10 мм, оснащенный пластиковой ручкой. Лазерная разметка обращена внутрь каркаса, что не позволяет устройству соприкасаться непосредственно с поверхностью измеряемого объекта. Органическое стекло зафиксировано по краю пластикового каркаса увеличительной лупы с помощью клея Cosmofen PMMA (Германия) таким образом, что нижняя его поверхность отстоит от нижнего края каркаса на расстояние, исключающее при наложении устройства на кожу контакт нижней поверхности стекла с ожоговой раной (зазор между устройством и измеряемым объектом составляет 5 мм). Устройство используется следующим образом: после стерилизации одним из холодных способов устройство прикладывается к измеряемому объекту, плотно прижимается к кожным покровам вокруг измеряемого объекта, удерживается за пластиковую ручку. С помощью перманентного маркера по наружной поверхности органического стекла отмечают размеры измеряемого объекта (рис. 1).

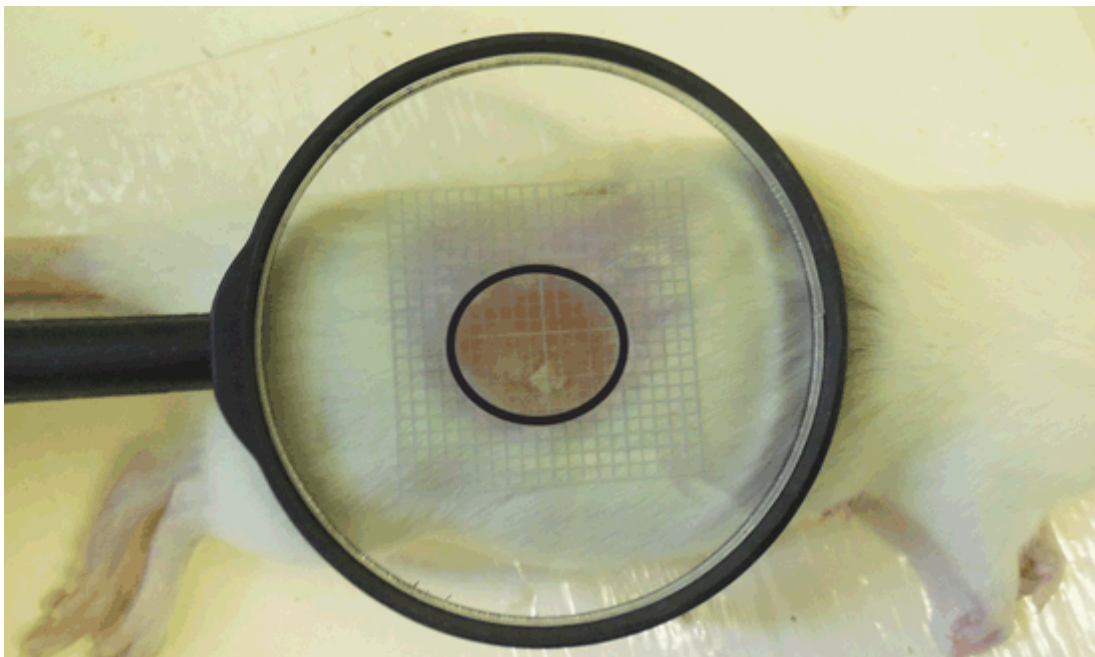


Рис. 1. Определение абсолютной площади ожоговых ран с помощью «Устройства для измерения площади поверхностных дефектов кожи»

Для измерения площади поверхностного дефекта кожи использовали формулу, предложенную Ф. Я. Божиновой [10].

$$S = \left(n + \frac{1}{2}k \right) \cdot C,$$

где n — количество полных ячеек размером $2 \times 2 \text{ мм}^2$; k — количество неполных ячеек размером $2 \times 2 \text{ мм}^2$; C — площадь одной ячейки размером $2 \times 2 \text{ мм}^2$.

Площадь термического ожога, наносимого в эксперименте (314 мм^2), составила 0,72 % от минимальной площади поверхности тела крыс в группе, 0,56 % от максимальной площади поверхности тела крыс в группе и 0,64 % от средней площади поверхности тела крыс в группе.

На первом (предварительном) этапе эксперимента отработывали параметры режима нанесения термического ожога с последующим изучением характера поражения кожи и подлежащих тканей (степени ожога) в зоне нагревания. На втором этапе эксперимента на основе ранее отработанных параметров режима нанесения термического ожога моделировали стандартный термический ожог, используя значения параметров, полученных на первом этапе эксперимента.

Накануне нанесения термического ожога на наружной поверхности бедра животных под севорановым наркозом выбривали шерсть с помощью машинки для стрижки шерсти животных PetclipperCodos CP-9580 (Южная Корея), оснащенной лезвием с титановым покрытием из нержавеющей стали и подвижным керамическим лезвием. После этого кожу обрабатывали 70 % раствором этилового спирта. Через сутки после депиляции оценивали целостность кожного покрова. При отсутствии признаков повреждения кожи она готова к нанесению термического ожога.

Перед нанесением термического ожога животных размещали на экспериментальном

столике. Термический ожог наносили под севорановым наркозом. Использовали ИК-нагреватель инфракрасной паяльной станции марки YaXunYX865D. Его размещали на расстоянии 15 мм от кожи животного. Это расстояние было выбрано изначально и не менялось в ходе эксперимента, чтобы уменьшить количество экспериментально подбираемых режимов. ИК-нагреватель фиксировали на штативе, чтобы избежать прямого контакта с кожей животного, что может привести к повреждению окружающих ожог тканей и увеличить тяжесть ожоговой травмы. Излучение направлялось перпендикулярно поверхности кожи животного (рис. 2).



Рис. 2. Нанесение термического ожога в соответствии со «Способом экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных»

Известно, что изменения в тканях при действии инфракрасного излучения зависят от уровня их нагревания. Так, нагревание тканей при температуре менее 60 °С приводит к образованию влажного (колликвационного) некроза, а более высокие температуры вызывают высыхание тканей и приводят к развитию сухого (коагуляционного) некроза. Поскольку интенсивность прогревания тканей ожоговой раны при действии инфракрасного излучения на разных участках неодинакова, то эти разновидности ожогов комбинируются в различных сочетаниях с наличием переходных форм [11].

Температуру нагревания кожи животных в эксперименте устанавливали на уровне 60 °С, основываясь на данных литературы, поскольку при данной температуре нагревания инфракрасное излучение проникает в ткани на глубину до 5 мм, прогревая их до 50–60 °С [11]. Температура нагревания 60 °С позволила получить поверхностные термические ожоги II и IIIa степени, подлежащие консервативному лечению, что подтверждалось данными морфологических исследований препаратов кожи экспериментальных животных.

Время нагрева кожи экспериментальных животных определено временем, необходимым для достижения в зоне нагрева температуры равной 60 °С. При моделировании термического ожога учитывали тот факт, что под влиянием севоранового наркоза температура тела крыс снижалась на 0,5–1 °С (гипотермия перераспределения) и составляла 37 °С (норма — 38 °С) [12].

На теле животных в зоне нагрева закрепляли с помощью теплопроводной пасты КПТ-8

термопару К-типа. После установления на панели ИК-паяльной станции температуры нагревания 60 °С и мощности излучения 100 Вт проводили нагревание кожи животных от исходной температуры тела 37 °С до заданной температуры 60 °С, что фиксировали термодатчиком. Установив регулятор температуры в положение «3» (60 °С) ограничивали температуру в зоне нагрева, выше которой она не поднималась. Индикатор температуры на панели ИК-станции вначале показывал заданную температуру 60 °С, а через 5 с — реальную температуру на коже животного.

Нагревание тканей в зоне нанесения ожога от 37 до 60 °С происходило на протяжении 23 с. При достижении 60 °С на 23-й секунде нагревание прекращали путем выключения паяльной станции марки YaXunYX865, так как результаты морфологических исследований препаратов кожи экспериментальных животных показали, что нагревание в данном режиме обеспечивало получение ожога II—IIIa степени (см. табл.).

Основные технические характеристики «Способа экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных»

Экспериментальные параметры	Данные
Термический агент	Инфракрасная паяльная станция
Расстояние нагревателя до кожи	15 мм
Температура на коже в зоне нагрева	60 °С
Длительность нагревания	23 с
Мощность излучения	100 Вт
Контроль температуры	Термопара К-типа
Место нанесения ожога	Бедро
Площадь ожога	3,14 см ²
Форма ожога	Круг диаметром 20 мм

При визуальном наблюдении было выявлено, что у всех экспериментальных животных на месте термического ожога в течение 10 мин после его нанесения формировался участок сухого коагуляционного некроза. Поверхность ожога была плотная желтоватого цвета и четко ограничивалась от окружающей здоровой ткани. Таким образом, можно сделать заключение, что воздействие инфракрасного излучения при температуре 60 °С и мощности 100 Вт на расстоянии 15 мм от поверхности кожи в течение 23 с вызывало у крыс развитие коагуляционного некроза, распространяющегося на все слои кожи (рис. 3).

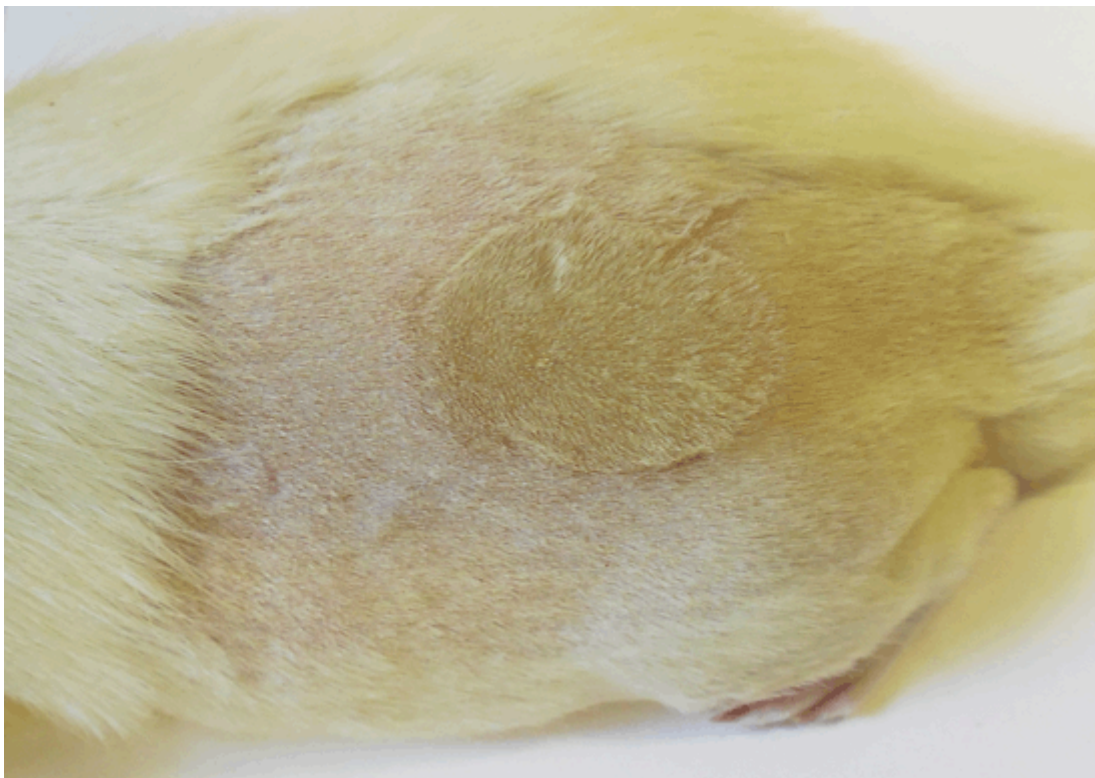


Рис. 3. Стандартизированный термический ожог II—IIIa степени

Результаты. В ходе эксперимента разработан «Способ экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных» [14], который позволяет наносить стандартные ожоги одной и той же площади, выраженной в абсолютных (см²) и в относительных (процент от всей площади поверхности тела) единицах, изменять площадь и глубину ожога, проводить изменения и измерения площади и глубины ожога, осуществлять нанесение ожога на плоские и неплоские участки тела.

В ходе эксперимента разработано и изготовлено «Устройство для измерения площади поверхностных дефектов кожи» [14], предназначенное для измерения площади поверхностных дефектов кожи (раны, ожоги, рубцы, пигментные пятна и другие дефекты), изготовленное из прочных материалов, оснащенное каркасом с рукояткой, что исключает непосредственный контакт измерительного устройства с раной.

Выводы. Предлагаемые «Способ экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных» и «Устройство для измерения площади поверхностных дефектов кожи» могут найти применение в экспериментальной и клинической медицине, а также в ветеринарии для моделирования поверхностных термических ожогов кожи у лабораторных животных на этапах доклинических исследований противоожоговых лекарственных препаратов, поскольку их технические решения отвечают требованиям Надлежащей лабораторной практики — Good Laboratory Practice.

Список литературы

1. Спиридонова Т. Г. Консервативное лечение ожоговых ран / Т. Г. Спиридонова // Рос. мед. журн. 2003. — Т. 9, № 13-14. — С. 560-563.
2. Патент № 2210118 РФ. Способ моделирования ожоговой травмы в эксперименте у животных / Моновцов И. А., Лазаренко В. А., Блинков Ю. Ю., Лазарев Е. В. — 08.10.01
3. Патент № 2472232 РФ. Способ моделирования термической ожоговой раны кожи

- у лабораторных животных / Колсанов А. В., Алипов В. В., Лебедев М. С., Добрейкин Е. А., Лимарева Л. В. — 24.03.11.
4. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс / Н. С. Пономарь [и др.] // Биомедицина. — 2012. — № 1. — С. 143-148.
 5. ГОСТ Р 53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. — М. : Стандартиформ, 2010. — 16 с.
 6. Патент № 2443391 РФ. Способ определения линейных размеров и площади поверхностной проекции атрофического рубца кожи / Еникеев Д. А., Гафаров Т. У. — 29.12.10.
 7. Патент № 2102755 РФ. Способ определения скорости заживления раневой поверхности / Осинцев Е. Ю., Слободской А. Б.
 8. Патент № 2401642 РФ. Устройство для определения размеров анатомических образований в стоматологии и описания рентгеновских снимков / Дынин И. И., Семькин М. С., Градобоев А. В., Давыдова Н. Г. — 10.09.09.
 9. Кочетыгов Н. И. Ожоговая болезнь / Н. И. Кочетыгов. — Л. : Медицина, 1973.
 10. Божинова Ф. Я. Физика. 7 класс : учебник / Ф. Я. Божинова, Н. М. Кирюхин, Е. А. Кирюхина. — Х. : Изд-во «Ранок», 2007. — 192 с.
 11. Ожоги : руководство для врачей / Под ред. Б. С. Вихриева, В. М. Бурмистрова. — 2-е изд., перераб. и доп. — Л. : Медицина, 1986. — 272с.
 12. Сесслер Д. Температурный контроль во время операции / Д. Сесслер // Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии. Освежающий курс лекций / Под ред. Э.В. Недашковского. — Архангельск : Тромсе, 1997. — 298 с.
 13. Приоритетная справка на изобретение № 2014152729 РФ. Способ экспериментального моделирования термического ожога у лабораторных животных / Пахомова А. Е., Пахомова Е. Е., Пахомова Ю. В., Яворский Е. М. — 24.12.14.
 14. Приоритетная справка на полезную модель РФ № 2014151653. Устройство для измерения площади поверхностных дефектов кожи / Пахомова А.Е., Пахомова Е.Е., Пахомова Ю.В. — 19.12.14.

NEW METHODS OF EXPERIMENTAL MODELLING THERMAL COMBUSTIONS OF SKIN AT LABORATORY ANIMALS, QUALIFIED TO THE PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (APPROPRIATE LABORATORY PRACTICE)

[*A. E. Pakhomova, J. V. Pakhomova, E. E. Pakhomova*](#)

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

Purpose and research problems: to develop a method of experimental modeling of thermal combustions at laboratory animals and the device for measurement of their area, qualified the requirements of Appropriate laboratory practice — Good Laboratory Practice. *Conclusions.* Offered «A method of experimental modeling of thermal combustion at laboratory animals» and «The device for measurement of the area of superficial defects of skin» can find use in experimental and clinical medicine, and also in veterinary medicine for modeling of superficial thermal combustions of skin for laboratory animals at stages of preclinical researches of antiburn medicinal preparations.

Keywords: thermal combustions of skin, antiburn medicinal preparations, area of burn wounds, experimental modeling, infrared radiation, Appropriate laboratory practice, Good Laboratory Practice.

About authors:

Pakhomova Angelina Evgenyevna — member of students scientific society of pathological physiology and clinical pathophysiology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: pakhomova2000@rambler.ru

Pakhomova Julia Vyacheslavovna — doctor of medical science, professor of pathological physiology and clinical pathophysiology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 229-10-82, e-mail: pakhomova2000@rambler.ru

Pakhomova Ekaterina Evgenyevna — member of students scientific society of pathological physiology and clinical pathophysiology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: pakhomova2000@rambler.ru

List of the Literature:

1. Spiridonova T. G. Conservative treatment of burn wounds / T. G. Spiridonova // Rus. medical journal. 2003. — V. 9, N 13-14. — P. 560-563.
2. Patent N 2210118 Russian Federation. Method of modeling of burn trauma in experiment at Animals / Monovtsov I. A., Lazarenko V. A., Blinkov Y. Y., Lazarev E. V. — 08.10.01

3. Patent N 2472232 Russian Federation. Method of modeling of thermal burn wound of skin at laboratory animals / Kolsanov A. V., Alipov V. V., Lebedev M. S., Dobreykin E. A., Limareva L. V. — 24.03.11.
4. Influence of preparation of the ionized silver on reparative neogenesis of skin and subjects of tissues when modeling thermal and corrosive burns at rats / N. S. Ponomar [etc.] // Biomedicine. — 2012. — N 1. — P. 143-148.
5. GOST P 53434-2009. Principles of appropriate laboratory practice. — M.: Standartinform, 2010. — 16 P.
6. Patent N 2443391 Russian Federation. Method of determination of linear sizes and area of superficial projection of the dermal atrophic cicatrix / Enikeev D. A., Gafarov T. U. — 29.12.10.
7. Patent N 2102755 Russian Federation. Method of determination of rate of adhesion of wound surface / Osintsev E. Y., Suburban A. B.
8. Patent N 2401642 Russian Federation. The device for determination of amount of anatomic educations in odontologies and descriptions of x-ray films / Dynin I. I., Semykin M. S., Gradoboyev A. V., Davydova N. G. — 10.09.09.
9. Kochetygov N. I. Burn disease / N. I. Kochetygov. — L.: Medicine, 1973.
10. Bozhinova F. Y. Physics. 7th class: textbook / F. Y. Bozhinova, N. M. Kiryukhin, E. A. Kiryukhina. — X.: Publishing house of «Wounds», 2007. — 192 P.
11. Combustions: guidacne for doctors / Under the editorship of B. S. Vikhriyev, V. M. Burmistrov. — 2nd ed., rev. and additional — L.: Medicine, 1986. — 272 P.
12. Sessler D. Temperature control during operation / D. Sessler // Actual problems of anesthesiology and reanimotology. The refreshing course of lectures / Under the editorship of E.V. Nedashkovsky. — Arkhangelsk: To Tromsa, 1997. — 298 P.
13. The priority reference on the invention N 2014152729 of the Russian Federation. Method of experimental modeling of thermal combustion at laboratory animals / Pakhomova A. E., Pakhomova E. E., Pakhomova J. V., Yavorsky E. M. — 24.12.14.
14. The priority reference on the useful Russian Federation model N 2014151653. The device for measurement of the area of superficial defects of skin / Pakhomova A.E., Pakhomova E.E., Pakhomova J.V. — 19.12.14.