

## СПОСОБЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ КОЖИ С РАЗВИТИЕМ РУБЦОВОЙ АЛОПЕЦИИ

Палымбетова Д.Н., Садыков Р.Р., Садыков Р.А., Бабажонов А.Б.

## TERIDA CHANDIQLI ALOPESIYA RIVOJLANISHI CHAQIRUVCHI TERMİK KUYISHLARNI MODELLASHTIRISH USULLARI

Palimbetiva D.N., Sadykov R.R., Sadykov R.A., Babajonov A.B.

## MODE OF MODELING THERMAL BURNS OF THE SKIN WITH THE EVOLUTION OF A CICATRICIAL ALOPECIA

Palimbetiva D.N., Sadykov R.R., Sadykov R.A., Babajonov A.B.

Ташкентская медицинская академия, Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии им. акад. В. Вахидова

**Maqsad:** kalamushlarda jarohatlarining bitishini xisobga olgan holda, chandiqli alopetsiya rivojlanishini keltirib chiqaruvchi, teri termik kuyishi modelini yaratish. **Material va usullar:** izlanish 12 ta jinsiy yetilgan bir yillik vazni  $200.5 \pm 2.7$  gr bo'lgan, nasldor bo'lmagan kalamushlarda o'tkazildi. Barcha jonivorlar ixtiyoriy tartibda har birida 6 tadan jonivor bo'lgan 2 ta guruhga ajratilgan. Tekshiruv guruhida termik kuyish boshning peshona qismiga qaynatilgan suv yordamida chaqirildi. Nazorat guruhida kuyish jarohati kuraklar aro sohasi terisida chaqirilgan. **Natija:** izlanish natijalariga ko'ra kuyish jarohati chaqirilgandan keyin 30 kunda asosiy guruhda terining chandiqli o'zgarishi va shu soha soch follikulalarining yo'qolishi rivojlangan, nazorat guruhida esa chandiqlanish kuzatilmadi. **Xulosa:** taqdim etilgan model kuyishdan keyingi chandiqli alopetsiyalar keltirib chiqaradi. Taklif qilingan modellashtirish usulini eksperimental va klinik tibbiyotda chandiqlarni davolashning zamonaviy usullarini klinikagacha bo'lgan tekshiruvlarini o'kazishda qo'llash mumkin.

**Калит сўзлар:** kuygan jarohat, chandiqli alopetsiya, eksperimental model.

**Objective:** Developing the model of thermal skin burn with the development of cicatricial alopecia in rats, taking into account the features of the healing of their wounds. **Materials and Methods:** The studies were carried out on 12 white adult outbred rats of the first year of life weighing  $200.5 \pm 2.7$  g. All animals were divided randomly into two groups of 6 each. In the experimental group, a thermal burn was caused by boiling water on the frontal area of the head. In the control group, a burn was caused on the skin of the back in the interscapular region. **Results:** 30 days after the application of the burn injury, in the experimental group cicatricial changes of the skin with the absence of hair follicles were observed, whereas in the control one, scar formation was not observed. **Conclusion:** The presented model allows reproducing post-burn scar alopecia. The proposed method of modeling can be used in experimental and clinical medicine at the stages of preclinical studies of new methods for their treatment.

**Key words:** skin thermal burns, cicatricial alopecia, experimental modeling.

Количество чрезвычайных ситуаций, сопровождающихся ожоговым травматизмом, продолжает увеличиваться [2,4]. Лечение больных с последствиями ожогов – одна из самых сложных проблем реконструктивной и пластической хирургии [1]. В 25-45% случаев обширных ожогов происходит поражение волосистой части головы [8]. При ожогах IIIБ степени рубцовое перерождение кожи головы и замещение фолликулярного слоя соединительной тканью приводит к гибели фолликул, образованию участков облысения [9]. По данным литературы, возникшая в результате перенесенной ожоговой травмы алопеция (облысение) различной локации и площади, представляет собой грубый косметический дефект, который может привести к снижению качества жизни, повышению тревожности и риска развития депрессий. Как показывает клинический опыт, улучшение вида таких рубцов без хирургического вмешательства не представляется возможным [3].

Для повышения эффективности лечения послеожоговой рубцовой алопеции исследователям не-

обходимо разработать способ экспериментального моделирования глубоких ожоговых травм волосистой части головы и тела на лабораторных животных. В качестве лабораторного животного чаще используются крысы, так как животные отличаются высокой устойчивостью к возникновению сепсиса и не требуют особых условий для своего содержания. В работе с данными, полученными в эксперименте на животных, следует учитывать тот факт, что сокращение раны считается основным методом заживления ран у крыс, в отличие от повторной эпителизации, наблюдаемой у людей. Это происходит благодаря подкожной мышце паннокулус, которая облегчает заживление кожи, как сокращением раны, так и образованием коллагена [7]. Именно поэтому очень сложно добиться рубцовой поверхности с достаточно большой площадью, чтобы воспроизвести послеожоговую рубцовую алопецию как у человека.

В литературе также описано большое количество методов моделирования термических ожогов на крысах [5], но отсутствуют данные о формировании послеожоговых рубцовых алопеций.

### Цель исследования

Создание модели термического ожога кожи с развитием рубцовой алопеции у лабораторных крыс с учетом особенностей заживления их ран.

### Материал и методы

Исследования проведены на 12 белых половозрелых беспородных крысах первого года жизни массой  $200,5 \pm 2,7$  г. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с требованиями ГОСТ ISO10993-11-2011 о надлежащих условиях подготовки и наблюдения за подопытными животными. Все животные в случайном порядке были разделены на 2 группы по 6 особей в каждой.

Эксперименты проводились в строгом соответствии с Международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных ТПК 125-2008 (02040).



Рис. 1. Нанесение ожоговой травмы на кожу лобной области.

Местные изменения визуализировались сразу после того, как устройство удалялось с поверхности кожи. Имели место признаки воспаления. Рану ничем не обрабатывали, оставляли в открытом состоянии. Животному наносилась маркировка для последующей идентификации, после чего оно освобождалось от фиксаторов. Практически сразу после проведенного эксперимента крыса начинала приходить в сознание, но для ускорения выведения продуктов метаболизма и усиления диуреза производилась внутривенно инъекция Sol. NaCl 0,9% 10,0 мл.

Животные контрольной группы вводили ингаляционный наркоз Sol. Halothane 5,0 мл и фиксировали на хирургическом столике, привязывая петлевыми узлами за передние и задние лапы. В области спины на шее шерсть удаляли, выстригая с последующим безопасным выбриванием на участке размером 3x3 см. На подготовленном участке тела, воздействуя в течение 12 секунд кипятком, моделировали ожог IIIБ степени. Площадь контактной поверхности – 9 см<sup>2</sup>. На пораженной поверхности кожи визуализировались местные изменения, имелись признаки воспаления. Рану ничем не обрабатывали, оставляли в открытом состоянии. Животному наносили маркировку для последующей идентификации,

Методика операции: под ингаляционным наркозом крысы опытной группы фиксировали на хирургическом столике, привязывая петлевыми узлами за передние и задние лапы. В лобной и теменной области шерсть выстригали с последующим безопасным выбриванием на участке размером 2x2 см. Эксперименты проводились в строгом соответствии с Международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных ТПК 125-2008 (02040).

На подготовленном участке лобной области головы моделировался ожог IIIБ степени воздействием на кожу кипятком в течение 9 секунд (рис. 1). Площадь контактной поверхности – 4 см<sup>2</sup>. Для обезболивания подопытных животных использовали ингаляционный наркоз согласно требованиям Международного этического комитета по экспериментам на лабораторных животных [6].

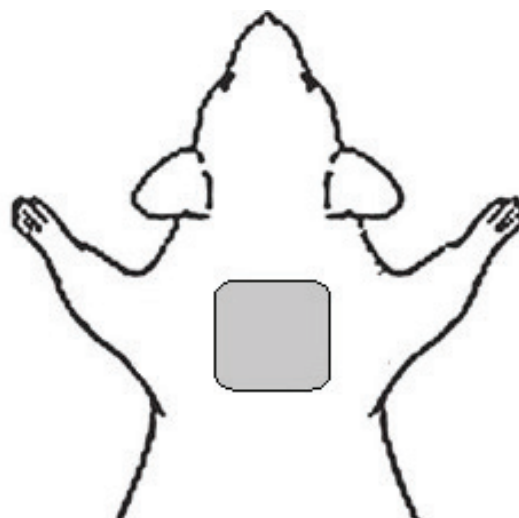


Рис. 2. Нанесение ожоговой травмы на кожу межлопаточной области.

после его освобождали от фиксаторов. Практически сразу после проведенного эксперимента крыса начинала приходить в сознание, но для ускорения выведения продуктов метаболизма и усиления диуреза производилась внутривенно инъекция Sol. NaCl 0,9% 10,0 мл.

При сравнительном анализе результатов воспроизведения ожога кожи учитывались следующие показатели. В ранний период (в течение 1-х суток после нанесения травмы) учитывались макроскопические признаки: выраженность местных признаков ожоговой раны; качественные и количественные признаки боли и дистресс-синдрома. В поздние сроки (спустя 21 и 30 сут после нанесения травмы) были проведены макроскопические и микроскопические исследования: при этом обращали внимание на характер рубцового изменения кожи, результаты гистологического исследования.

Для приготовления морфологических препаратов поврежденную кожу, включающую рану, иссекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. По истечении сроков фиксации биоптат заливали в парафин. Затем готовили парафиновые блоки. Изготавливали серийные срезы толщиной 3-4 мкм. Гистологические препараты окрашивали

гематоксилином и эозином. При микроскопии оценивали динамику развития воспалительной реакции, особенности регенерации кожи.

### Результаты и обсуждение

Исследование показало, что важным фактором клинической значимости является метод, используемый для индукции ожогов у подопытных животных с последующим формированием рубцовой алопеции. Во многих ранних работах описаны способы моделирования ожоговой травмы, приводящие к формированию рубцового дефекта у крыс. Наиболее часто упоминаемым в исследованиях способом моделирования ожоговой раны является использование контактного воздействия нагретых металлических пластин, чаще медных. Так, например, В.В. Алипов описал способ моделирования ожоговых ран в эксперименте нагретой медной пластинкой [1]. Этот способ моделирования легко воспроизводим, не требует владения специальными навыками. К недостаткам можно отнести твердую поверхность пластины, которая не позволяет повторить рельеф поверхности тела, что не дает возможность получения равномерной глубины ожога. Формирование ожоговой травмы с помощью горячего воздуха, нагретого электрофеном «Bosch GHG 650 LCE» до температуры 500°C [5] вызывает высокую летальность животных (20% в первые трое суток после эксперимента). Данный способ больше подходит для моделирования ожоговой болезни. А.Е. Пахомовой и соавт. предложен способ моделирования ожоговой раны с помощью ИК-нагревателя инфракрасной паяльной станции марки «YaXunYX865D» [7]. Авторы указывают на возможность контролировать температуру воздействия непосредственно на коже животного, в зоне расположения термодары. Преимуществом метода является обеспечение быстрого воспроизведения ожоговой раны, точно заданной глубины поражения кожи. Малая площадь воздействия (2 мм), составляющая диаметр световода лазера, создает неудобство, так как для получения заданной площа-

ди ожога требуется многократное повторение, что делает процесс длительным и трудоемким.

Нами разработан простой в исполнении, воспроизводимый, не требующий специальных навыков способ моделирования термических ожогов, позволяющий провести доклинические исследования по профилактике и лечению рубцовой алопеции волосистой части головы и тела.

С точки зрения сходства структуры и процессов заживления кожи с человеческой наиболее подходящей моделью для формирования ожогового рубца является свинья, однако это животное более подвержено септическим осложнениям, которые приводят к высокой летальности. Более приемлемой является модель на крысах. В своих исследованиях мы учитывали особенность ранозаживляющего механизма крыс, существенно отличающегося от механизма человека. Сокращение раны считается основным методом заживления крыс, в отличие от повторной эпителизации, наблюдаемой у людей. Это происходит потому, что крысы обладают подкожной мышцей паннокулус, которая облегчает заживление кожи как в результате сокращения раны, так и благодаря образованию коллагена [9]. Однако кожа головы обладает наименьшей степенью сокращения.

Изучение выраженности местных признаков ожоговой раны, качественные и количественные признаки боли и дистресс-синдрома показало, что сразу после экспериментов в обеих группах различия были незначительными. Лабораторные животные опытной и контрольной групп во время экспериментального моделирования и сразу после него не испытывали боль и дискомфорт выше, чем легкой степени. Средняя температура на поверхности кожи в момент воздействия была стабильной и не зависела от внешних условий. На ранних сроках в обеих группах различия были незначительными. Клинически и макроскопически подтверждалось равномерное поражение травмированного участка (рис. 3, 4).

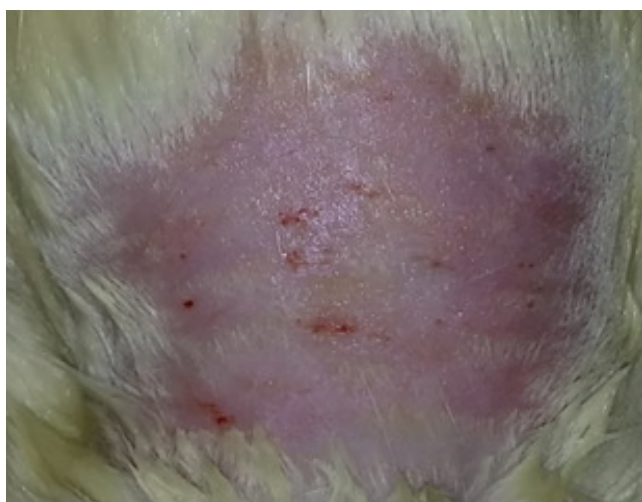


Рис. 3. Локальные изменения сразу после нанесения ожога на межлопаточную область.

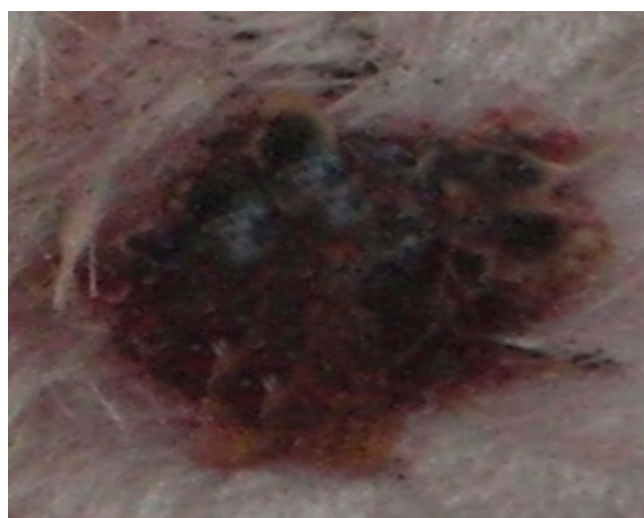


Рис. 4. Локальные изменения сразу после нанесения ожога на лобную область.



**Рис. 5.** 7-е сутки. Ожоговая рана, локализованная в межлопаточной области, покрыта равномерным струпом. Преимущественно в центре её имеются участки размягчения и отслоения струпа со скоплением под ними серозно-гнойного экссудата.

В контрольной группе на 30-е сутки произошло полное заживление ожоговой раны, сокращение кожи привело к тому, что рубцовые изменения ткани совершенно отсутствовали (рис. 5). Моделирование



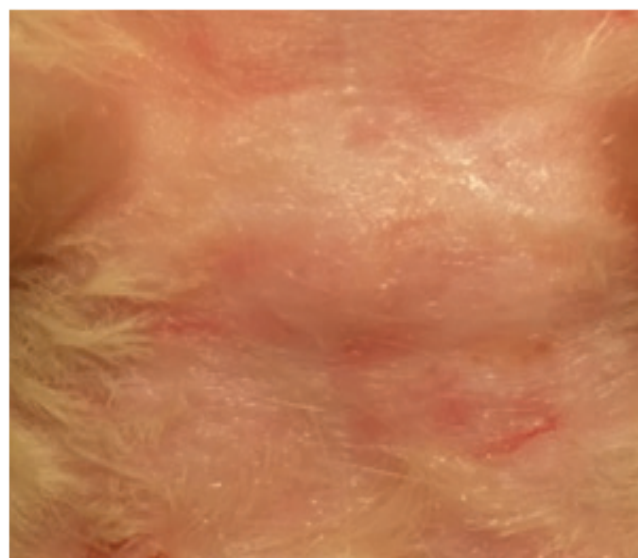
**Рис. 6.** 7-е сутки. Ожоговая рана, локализованная в лобной области, покрыта струпом. Имеются участки размягчения и отслоения струпа со скоплением под ними серозно-гнойного экссудата.

термического ожога у крыс опытной группы в лобной области головы позволило получить легко воспроизводимые рубцовые изменения кожи, достаточные для проведения методов лечения (рис. 6).



**Рис. 7.** На 30-е сутки после проведенного эксперимента на месте нанесения ожоговой раны локализованной в межлопаточной области визуализируется отсутствие рубцовой ткани

Морфологические данные подтверждают результаты макроскопических исследований. На 3-и сутки отмечается некроз эпидермиса, всех слоев дермы с кровоизлияниями и стазом крови в сосудах. На некоторых участках ожоговой раны вблизи здоровой кожи имеется отторжение верхних слоев дермы. Выраженный отек гиподермы,



**Рис. 8.** На 30-е сутки после проведенного эксперимента на месте нанесения ожоговой раны локализованной в лобной области визуализируется наличие рубцовой ткани с дефектом прорастания волос.

инфильтрация на границе дермы и струпа. Струп связан с дном раны не прочно. Воспалительный инфильтрат, образующий четкую демаркационную зону, представлен преимущественно гранулоцитарными лейкоцитами. Дериваты кожи (волосяные фолликулы, железы) отсутствуют или склерозированы (рис. 9).

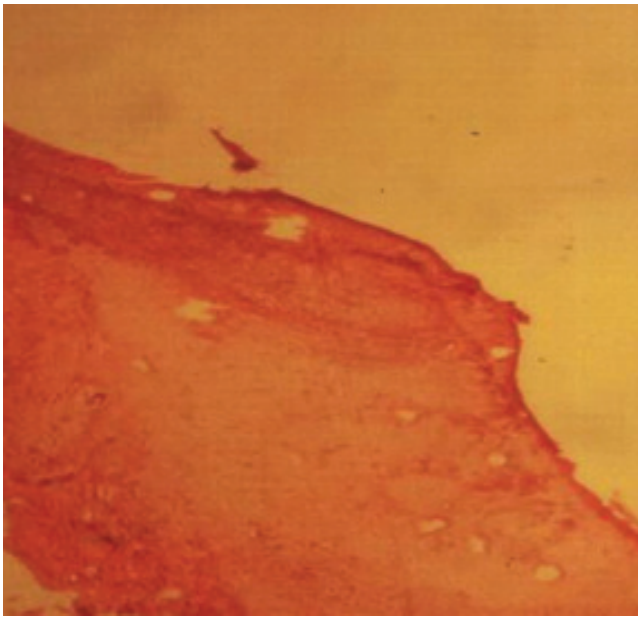


Рис. 9. Ткань с места ожога на 3-и сут. Окраска гематоксилином и эозином.

#### Выводы

1. При формировании послеожоговой рубцовой алопеции на крысах следует учитывать область воздействия травмирующего фактора.
2. Наименьшей способностью к контракции (сокращению) раны, обладает кожа головы.
3. Описанная модель термического ожога кожи позволяет воспроизводить послеожоговую рубцовую алопецию.
4. Предложенный способ моделирования может найти применение в экспериментальной и клинической медицине на этапах доклинических исследований новых методов лечения рубцовых алопеций.

#### Литература

1. Альтшулер Е.М., Гнедь М.А. Артеменко Л.А. Устранение тяжелых приводящих контрактур плечевого сустава лоскутами широчайшей мышцы спины // Термические поражения и их последствия: Сб. науч. тр. 5-го съезда комбустиологов России. – М., 2017. – С. 12-13.
2. Бережнова Т.А., Масалытин А.В., Набродов Г.М., Шилов А.И. Влияние жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом на морфофункциональное состояние кожи при поверхностных термических ожогах в эксперименте // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2014. – Т. 13, №4. – С. 809-812.
3. Ковалёва Л.Н. Современный дифференцированный подход к комплексному лечению и профилактике рубцов кожи разной этиологии // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2016. – №1-4. – С. 188-198
4. Колупаева Е.И., Механтьева Л.Е., Масалытин А.В. и др.

Сравнительная характеристика способов моделирования термических ожогов на крысах в условиях проведения эксперимента студентами // Междунар. студ. науч. вестн. – 2016. – №4, ч. 2. – С. 152-154.

5. Пахомова Ю.А., Пахомова Е.В., Пахомова Е.Е. Новый способ экспериментального моделирования термических ожогов кожи у лабораторных животных, отвечающий принципам good laboratory practice (надлежащей лабораторной практики) // Медицина и образование Сибири. – 2015. – №3. – С. 97-100.

6. Попов Н.С., Демидова М.А., Шестакова В.Г. и др. Изменения кожи при наружном применении экстракта пиявки // Тверской мед. журн. – 2014. – №2. – С. 45-50.

7. Abdullahi A., Amini N.S., Jeschke M.G. Animal models in burn research // Cell. Mol. Life Sci. – 2014. – Vol. 71. – P. 3241-3255.

8. Hawkins H.K., Jay J., Finnerty C.C. Pathophysiology of the Burn Scar // Total Burn Care, 5th Edition. – 2018. – P. 466-475.

9. Ahuja R.B., Chatterjee P. Management of Postburn Alopecia // Total Burn Care, 5th Edition. – 2018. – P. 555-561.

### СПОСОБЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ КОЖИ С РАЗВИТИЕМ РУБЦОВОЙ АЛОПЕЦИИ

Палымбетова Д.Н., Садыков Р.Р., Садыков Р.А., Бабажонов А.Б.

**Цель:** создание модели термического ожога кожи с развитием рубцовой алопеции у крыс с учетом особенностей заживления их ран. **Материал и методы:** исследования проведены на 12 белых половозрелых беспородных крысах первого года жизни массой  $200,5 \pm 2,7$  г, разделенные в случайном порядке на две группы по 6 особей в каждой. В опытной группе термический ожог был вызван кипящей водой в лобной области головы. В контрольной группе ожог вызывали на коже спины в межлопаточной области. **Результаты:** на 30-е сутки после нанесения ожоговой травмы в опытной группе были получены рубцовые изменения кожи с отсутствием волосяных фолликулов, тогда как в контрольной группе образование рубца не наблюдалось. **Выводы:** предложенная модель, позволяющая воспроизводить послеожоговую рубцовую алопецию, может найти применение в экспериментальной и клинической медицине на этапах доклинических исследований новых методов их лечения.

**Ключевые слова:** термические ожоги кожи, рубцовая алопеция, экспериментальное моделирование.