© Кондратюк В.М., Пашковська О.В., Зайцева Т.О., Дячок Ю.Р.

УДК: 616001.4003.9:579.63:612.08

***Кондратюк В.М., Пашковська О.В., Зайцева Т.О., Дячок Ю.Р.***
Військово-медичний клінічний центр Центрального Регіону (вул. Князів Коріатовичів, 185, м.Вінниця, 21018, Україна); Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра медицини катастроф та військової медицини (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

# ПРИДАТНІСТЬ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ СПЛІНТ-РАН ЩУРІВ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ПРОЦЕСУ ЗАГОЄННЯ В УМОВАХ ШТУЧНОЇ КОНТАМІНАЦІЇ БАКТЕРІЯМИ

**Резюме.** *Процес загоєння ран - одне з ключових питань сучасної медицини, а з урахуванням збільшення поранень у практиці українських військових лікарів набуває актуальності. Існує значна кількість моделей ран у тварин. Сплінт-рана шкіри є цікавою моделлю, яка досить точно віддзеркалює процес ранозагоєння, а використання щурів робить її доступною. У ході дослідження визначили переваги та недоліки використання сплінтран щурів для вивчення процесу загоєння контамінованих ран. Встановили ключові моменти отримання даних, що впливають на результати досліду, а саме: послідовність проведення маніпуляцій з контрольною та групами, яким проводять контамінацію ран, особливості створення сплінтран, щоденного спостереження та реєстрації змін у ранах. Надані рекомендації по плануванню експерименту. Для попередження втрати одиниць спостереження слід планувати відповідну кількість тварин, з урахуванням можливих невдач, які ми висвітили.*

**Ключові слова:** *контамінована рана, модель, сплінт - рана.*

## Вступ

Процес загоєння ран - одне з ключових питань сучасної медицини, а з урахуванням збільшення поранень у практиці українських військових лікарів набуває актуальності. Добровільне зараження ран людини патогенними мікроорганізмами для вивчення процесу загоєння рани обмежено етичними і моральними засадами. Отже, дослідження нових методів чи препаратів для покращення загоєння ран можливо розробляти лише на тваринних моделях [3].

Для створення моделей використовують представників хребетних (щури, миші, кролі, свині). Кожна з моделей має певні переваги і обмеження. Так, властивості імунної системи свині, велика спорідненість шкіри тварини дуже добре відтворюють процеси ранозагоєння. Проте, моделі із застосуванням свиней економічно обтяжливі і не завжди доступні. Недоліком використання кролів для моделювання ранозагоєння стало швидке закриття ран, що не дає змоги оцінити в повному обсязі цей процесс [4].

Широко доступними та простими у догляді визнані гризуни. Нажаль, на відміну від ран людини, які загоюються шляхом проліферації клітин сполучної тканини, епітелізації та ангіогенезу, закриття рани у гризунів відбувається завдяки скороченню м'язів шкіри. Для подолання цього обмеження розроблені сплінт-моделі ран, в яких краї рани швами фіксуються до штучного сплінт-диску [1]. В такий спосіб м'язи шкіри не зводять краї ран, і перебіг закриття ран віддзеркалює процес загоєння рани у людини. Створення сплінт-рани не потребує складних хірургічних маніпуляцій, за ранами легко спостерігати та вимірювати [5].

*Мета* - дослідити переваги та недоліки використання моделі сплінт-ран у щурів для вивчення закономірностей загоєння контамінованих ран. Також метою роботи є поділитись набутим досвідом та проаналізувати помилки, що виникають при роботі з цією моделлю.

## Матеріали та методи

На проведення експерименту отримано дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова (протокол №3 від 15.03.2016 р.), якою встановлено, що проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. При проведенні досліджень дотримувалися основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), закону України № 3447IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 21 лютого 2006 року.

До свого досліду ми залучили 18 молодих лабораторних щурів вагою 285,0-350,0 грам. Тварин поділили на 3 групи, у двох із яких провели інокуляцію бактеріальної суміші. Щурів утримували окремо в клітках з достатньою кількістю води та їжі. Тварини контрольної і груп, в яких проводили контамінацію, не контактували між собою.

В якості сплінтів використовували силіконові диски товщиною 1 мм, діаметром 15 мм. Всередині диску за допомогою інструменту для біопсії шкіри Dermo Punch робили отвір діаметром 7 мм. Для анестезії інтраперітонеально вводили препарат. Депіляцію проводили безпосередньо перед утворенням ран. Операційне поле обробляли розчином повідон йоду та 70% етилового спирту. Анестезовану тварину вкладали на стерильну поверхню, на рівні лопаток по задній поверхні утворювали шкірну складку, в якій голкою Dermo Punch діаметром 5 мм створювали симетричні рани на повну товщу шкіри по краям від серединної лінії. Стерильний силіконовий диск фіксували ціанокрілатним клеєм до рани так, щоб отвір диску співпадав з раною. Додатково диск прошивали Prolene50 (Ethicon). За планом експерименту в рани щоденно вносили фізіологічний розчин або бактеріальну завис об'ємом 0,1 мл.

Для захисту від сторонніх частинок чи мікроор-

ганізмів, силіконові диски вкривали напівпроникною прозорою плівкою Tegaderm, котра безпосередньо з раною не контактувала. Реєстрували стан ран фотокамерою з роздiловою здатністю 13 Мп, зі штативу. Тварин виводили з досліду передозуванням анестетика, забираючи попередньо матеріал для гістологічного та лабораторного дослідження.

## Результати. Обговорення

При виконанні експерименту на тваринах, яких штучно контамінують мікроорганізмами, є ряд специфічних умов, недотримання котрих може вплинути на результати.

Індивідуальне утримання тварин дозволяє попередити руйнування та від'єднання імплантів за допомогою іншої тварини. Помилки у виборі місця імплантації диску (не на рівні лопаток щура) дає змогу тварині самостійно його відгризти. Позитивним моментом є те, що на цій ділянці є можливість встановити 2 імпланти і розглядати кожну рану як окрему одиницю спостереження з подальшим зменшенням кількості тварин в експерименті в цілому [2].

У нашому досліді всі групи тварин, контрольна та групи в яких контамінували тварин, були введені в експеримент одночасно. При проведенні робіт з тваринами всі дослідники дотримувались заходів по попередженню контакту дослідних тварин з контрольною групою, виконували почергово маніпуляцій від контрольної групи до дослідних, використовували окремі стерильні інструменти для кожної групи. Але незважаючи на це, при мікробіологічному контролі на 35 добу з двох ран контрольної (неконтамінованої групи) виділили зразки мікроорганізмів, що вносили як штучні контамінанти в дослідних групах. Найімовірніше контамінація відбувалась під час маніпуляцій, пов'язаних із загальним доглядом за тваринами, годуванні, або заміні устілок. Вирішенням цього небажаного ефекту ми бачимо в правильному плануванні експерименту. Ми рекомендуємо, вводити до досліду спочатку тільки контрольну групу тварин, без внесення в лабораторію мікробних культур. В другу чергу проводити дослід з мікробними культурами, а завершувати вивченням лікувальних властивостей нових препаратів чи композицій, щоб попередити потрапляння в рану бактерій, які знаходились під впливом протимікробних препаратів.

Важливі особливості виявлені нами під час безпосереднього створення сплінт-ран. При депіляції операційного поля слід уникати механічного порушення цілісності шкіри, адже мікротравми після штучної контамінації можуть стати додатковими вогнищами запалення. Силіконовий диск краще фіксуються до сухої, вільної від шерсті шкіри. Тих самих вимог слід дотримуватись при аплікації пов'язки Tegaderm. Її розмір повинен перевищувати діаметр диску, але так щоб не дати змогу тварині стягнути її лапою чи зубами. В момент наклеювання сплінт-диску шкіру необхідно легенько розтягнути, щоб попередити утворення зморшок під диском. Після формування рани, її краї додатково розходяться, тому отвір в диску повинен перевищувати діаметр нанесеної рани на шкірі. Занадто затягненні вузли викликають ішемію та швидке прорізування шовного матеріалу, і як результат від'єднання диску від поверхні шкіри.

В оригінальній методиці по створенню сплінт-ран рекомендовано фіксувати диски ціанокрилатним клеєм. На українському ринку від доступний у формі рідини або гелю. Гель краще дозується при нанесенні на поверхні, що склеюються, не відбувається його вільного затікання. При потраплянні клею до рани відбувається деформація країв рани, що впливає на вимірювання, краї стають ригідними, що спотворює процес загоєння. Одна рана по цій причині була виключена зі спостереження.

На 67 добу за рахунок підростання шерсті у тварин та відторгнення фіксуючих лігатур спостерігалось секторальне відклеювання силіконових дисків від шкіри тварин. Цей небажаний ефект приводить до втрати інокулуму та прискорює його висихання. Та саме головне втрачається ефект розтягування шкіри і краї рани сходяться під впливом м'язів. Цей факт необхідно враховувати при постановці досліду. Щоб цього уникнути завершення досліду можливо спланувати до 7 доби, або на 56 добу запланувати повторну фіксацію чи заміну сплінт-дисків. З цієї причини один зі щурів був виведений з експерименту раніше запланованого терміну.

Одна тварина загинула під час інтраперітонеального введення анестетика. Вірогідно ін'єкція була виконана в судину чи у внутрішній орган.

Для програмного обчислення площі рани щоденно проводили фотореєстрацію ран кожної піддослідної тварини. Необхідно встановлювати маркер масштабу паралельно відносно об'єктива камери та площини рани, біля краю рани, кожного разу на однаковій висоті (у нашому виконанні 30 см). Важливо реєструвати кожну рану окремо при максимальному збільшенні фотокамери для подальшого аналізу отриманих даних та зменшення похибки у вимірах.

## Висновки та перспективи подальших розробок

1. Шкірна сплінт-рана є цікавою моделлю, яка досить точно відтворю процес ранозагоєння, а використання щурів в якості лабораторних тварин робить її доступною.

2. Для попередження втрати одиниць спостереження до завершення експерименту, слід планувати відповідну кількість тварин, з урахуванням можливих невдач, які ми намагались висвітити.

Модель сплінт-рани у щурів перспективна для дослідження ранозагоєння під впливом нових перев'язувальних матеріалів, лікарських засобів, та при контамінації різними видами мікроорганізмів.

## Список літератури


1. Chronic wound biofilm model/K.Ganesh, M. Sinha, S.S.WathewSteiner [et al.] //Adv. wound care.- 2015.- V.7.- P.382-388.
2. Development of a novel, highly quantitative in vivo model for the study of biofilm impaired cutaneous wound healing /A.N.Gurjala, M.R.Geringer, A.K.Seth [et al.] //Wound Repair Regen.- 2011.- Vol.19.- P.400-410.
3. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy /C.K.Sen, M.R.Geringer, A.K.Seth [et al.] //Wound Repair Regen.- 2009.- Vol.17.- P.763-771.
4. Lindblad W.J. Considerations for selecting the correct animal model for dermal woundhealing studies /W.J.Lindblad //J. Biomater. Sci. Polym. Ed.- 2008.- Vol.19.- P.1087-1096.
5. Time course study of delayed wound healing in a biofilmchallenged diabetic mouse model /G.Zao, M.L.Usui, R.A.Underwood [et al.] //Wound Repair Regen.- 2012.- Vol.20, №3.- P.342 352.


***Кондратюк В. Н., Пашковская Е. В., Зайцева Т.А., Дячок Ю.Р.***

**ПРИГОДНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СПЛИНТ-РАНЫ КРЫС ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССА ЗАЖИВЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОЙ КОНТАМИНАЦИИ БАКТЕРИЯМИ**

**Резюме.** *Процесс заживления ран один из ключевых вопросов современной медицины, а с учетом увеличения ранений в практике украинских военных врачей приобретает актуальность. Существует значительное количество моделей ран у животных. Сплинт-рана кожи является интересной моделью, которая достаточно точно отражает процесс ранозаживления, а использование крыс делает ее доступной. В ходе исследования определили преимущества и недостатки использования сплинт-ран крыс для изучения процесса заживления контаминированных ран. Установили ключевые моменты получения данных, влияющие на результаты опыта, а именно: последовательность проведения манипуляций с контрольной и группами, которым проводят контаминации ран, особенности создания сплинт-ран, ежедневного наблюдения и регистрации изменений в ранах. Даны рекомендации по планированию эксперимента. Для предупреждения потери единиц наблюдения следует планировать соответствующее количество животных, с учетом возможных неудач, которые мы осветили.*

**Ключевые слова:** *контаминированная рана, модель, сплинт - рана.*

***Kondratiuk V.M., Pashkovska O.V., Zaitseva T.O., Dyachok Yu.R.***

**APPLICABILITY OF RATS WOUND SPLINTMODEL TO STUDY HEALING PROCESS OF ARTIFICIALLY CONTAMINATED WOUNDS**

**Summary.** *The process of healing wounds one of the key issues of modern medicine, but with the increase in injuries in the practice of Ukrainian military doctors acquires relevance. There are a large numbers of models of wounds in animals. Skin splint-wound is an interesting and accessible model that accurately reflects wound healing process. The study identified the advantages and disadvantages of using rats splintwound to study the healing process of contaminated wounds. Were defined the key points that affect the results of the experiment, namely a sequence of manipulation with control group and groups which underwent contamination, splintcreation, daily observation and recording of the changes in the wounds. The recommendations on the planning of the experiment are given. To prevent loss of observation units one should plan for the appropriate number of animals, taking into consideration the possible failures that we have highlighted.*

**Key words:** *contaminated wound, model, splint-wound.*

***Рецензент д.мед.н., проф. Ковальчук В.П.***

*Стаття надійшла до редакції 18.05.2016 р.*

*Кондратюк Вячеслав Миколайович* - к. мед. н., начальник відділення анестезіології ВМКЦ ЦР Вінниця; +38(098)2771618; kondratuk2007@gmail.com

*Пашковська Олена Вікторівна* - начальник відділення ВМКЦ ЦР; kondratuk2007@gmail.com

*Зайцева Тетяна Олександрівна* - студентка 3 курсу першого медичного факультету ВНМУ ім.М.І.Пирогова; tatianazaitseva123@gmail.com

*Дячок Юлія Русланівна* - студентка 3 курсу першого медичного факультету ВНМУ ім.М.І.Пирогова; squirrel96@ukr.net