

DOI: 10.26693/jmbs03.04.044

УДК 616-001.17-018.7-092.9

Проценко О. С.¹, Кравцов О. В.², Ремньова Н. О.¹,
Шаповал О. В.¹, Долгая О. В.³, Сазонова Т. М.¹

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ТКАНИНАХ ШКІРИ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ

¹Харківський національний університет імені В. Н.Каразіна, Україна

²ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України»,
Харків, Україна

³Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

shapoval@karazin.ua

У статті наводяться результати дослідження морфологічних особливостей змін у тканинах шкіри щурів при моделюванні опікової травми за умов різної тривалості термічного впливу та у різні строки від моменту постановки експерименту.

Дослідження було проведене на лабораторних щурах лінії Вістар. Всі маніпуляції у ході утримання та постановки експерименту проводили згідно з загальноприйнятими біоетичними принципами. Об'єктом дослідження була шкіра лабораторних тварин, на яких експериментально змоделивали опікову травму.

Експериментальні тварини були розділені на групи в залежності від строків після моделювання термічного опіку. Кожну основну групу було поділено на підгрупи в залежності від тривалості експозиції термічного агента. Група контролю складалася із здорових тварин з неушкодженою шкірою.

Проаналізовано динаміку морфологічних змін у тканинах шкіри щурів з експериментальними опіковими ранами за умов різної тривалості термічного впливу та у різні строки від моменту постановки експерименту.

При моделюванні опіків у щурів виявлено чіткий прямий взаємозв'язок між тривалістю експозиції термічного агента та ступенем тяжкості пошкоджень структур шкіри у різні строки після термічної травми.

Ключові слова: опікова травма, експеримент, моделювання опіків, морфологічні зміни.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Виконане дослідження є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Розробити критерії діагностики та методи профілактики загальних і місцевих гнійно-септичних ускладнень опікової хвороби», № державної реєстрації 0116U000958.

Вступ. Ефективне лікування хворих з опіковою травмою у теперішній час залишається однією з актуальних задач сучасної медицини.

Не дивлячись на значний прогрес у лікуванні хворих з тяжкою опіковою травмою, зберігаються високі показники летальності серед пацієнтів з даною патологією [1].

Тяжкість перебігу та наслідки термічної травми у значній мірі визначаються загальним та місцевим розвитком інфекційного процесу [1, 9]. З цієї причини при лікуванні пацієнтів з тяжкими опіками слід використовувати комплекс заходів, що забезпечує активний вплив на перебіг гнійно-септичного процесу у опічених, який часто супроводжує опікову хворобу. Оптимізувати результати лікування постраждалих можливо шляхом удосконалення методів діагностики, профілактики та розробки ефективних способів впливу на перебіг опікової хвороби [5]. З цієї метою постійно вдосконалюються способи діагностики глибини пошкодження при опіках, методи керування зоною паранекрозу, розробляються способи закриття опікових ран в умовах дефіциту донорських ресурсів шкіри та нові лікарські засоби для місцевого та загального лікування хворих з опіками [8].

Процес розробки нових методик та медичних препаратів для лікування опікових хворих нерозривно пов'язаний з необхідністю дослідження опікової травми в експерименті [6, 7].

Мета дослідження. Метою даного дослідження було вивчення морфологічних особливостей змін у тканинах шкіри щурів при моделюванні опікової травми за умов різної тривалості термічного впливу та у різні строки від моменту постановки експерименту.

Об'єкт і методи дослідження. Дане дослідження було проведене на 20 лабораторних щурах лінії Вістар масою тіла 200–220 г. Тварини утримувались у звичайних умовах віварію на стандартному раціоні при природному освітленні та з вільним

доступом до води та їжі. Всі маніпуляції у ході утримання та постановки експерименту проводили згідно з біоетичними принципами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» та загальними етичними принципами експериментів на тваринах [2, 3, 4]. Об'єктом дослідження була шкіра лабораторних тварин (щурів), на яких експериментально змодельовали опікову травму.

Експериментальні тварини були розділені на 5 основних груп в залежності від строків після моделювання термічного опіку. Кожну основну групу було поділено на 4 підгрупи в залежності від тривалості експозиції термічного агента. Група контролю складалася із здорових тварин з неущождженою шкірою. Дані щодо складу груп спостереження наведені у таблиці 1.

Таблиця 1 – Розподіл експериментальних тварин в залежності від строків після моделювання термічного опіку та тривалості експозиції термічного агента

Досліджувані групи	Час з моменту травми	Час експозиції термічного агента			
		2 секунди	5 секунд	10 секунд	15 секунд
A	1-ша година	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
B	1-ша доба	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
C	3-тя доба	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
D	7-ма доба	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄
E	14-та доба	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄

Для мікроскопічного дослідження вирізалися шматочки пошкодженої шкіри на межі з неущождженими тканинами. Шматочки фіксувалися у 10% розчині нейтрального формаліну. Потім матеріал піддавався стандартній проводці крізь спирти концентрації, що збільшувалась, рідину Нікіфорова (96% спирт та діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливався парафіном. З приготованих таким чином блоків виготовляли серійні зрізи завтовшки 4–5 мкм. Препарати забарвлювались гематоксиліном та еозином та за методом ван Гісона.

Кожен випадок, що досліджувався, піддавався оглядовій мікроскопії, під час якої оцінювали загальний характер ушкодження шкіри, стан судинного русла, а також інтенсивність вторинних змін (крововиливи, некроз, набряк, запалення).

Комплекс гістологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) с фотокамерою «Pover Shot G7» (Canon).

Результати досліджень та їх обговорення.

Морфологічна характеристика тканин шкіри щурів через 1 годину після моделювання термічної травми (група A)

Підгрупа A₁. Роговий шар шкіри представлений у вигляді пластів, що відшарувалися. Практично весь епідерміс некротизований та представлений у вигляді компактної тканини інтенсивно базофільного кольору з невиразною будовою. Сосочки дерми згладжені та представлені у вигляді груп деформованих ядер клітин сполучної тканини. Колагенові волокна дерми гомогенізовані, випрямлені паралельно поверхні шкіри, зближені, інтенсивно базофільні. Сальні та потові залози помірно зморщені, у волосяних фолікулах ядра забарвлені інтенсивно та мають паличкоподібну форму. Судини дерми та підшкірно-жирової клітковини нерівномірно розширені, повнокровні. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології. Реактивні зміни (набряк, запалення) не виявлені.

Підгрупа A₂. В експериментальних опікових ранах тварин роговий шар шкіри представлений у вигляді дрібних фрагментів, що відшарувалися. Епідерміс на великому протязі некротизований та представлений у вигляді компактної тканини інтенсивно базофільного кольору з невиразною будовою. Місцями зустрічаються ділянки епідермісу, що зберігся; ядра клітин цього епідермісу є різко гіперхромними та мають видовжену форму. Сосочки дерми згладжені та представлені у вигляді груп деформованих ядер клітин сполучної тканини. Колагенові волокна дерми гомогенізовані, випрямлені паралельно поверхні шкіри, зближені, інтенсивно базофільні. Сальні та потові залози помірно зморщені, у волосяних фолікулах ядра забарвлені інтенсивно та мають паличкоподібну форму. Судини дерми та підшкірно-жирової клітковини нерівномірно розширені, повнокровні. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології. Реактивні зміни (набряк, запалення) не виявлені.

Підгрупа A₃. У тканинах опікових ран роговий шар шкіри представлений у вигляді дрібних фрагментів, що відшарувалися. Епідерміс на великому протязі збережений, ядра клітин цього епідермісу є різко гіперхромними та мають видовжену форму. Сосочки дерми згладжені та представлені у вигляді груп деформованих ядер клітин сполучної тканини. Колагенові волокна дерми місцями гомогенізовані, випрямлені паралельно поверхні шкіри, зближені, помірно базофільні. Сальні та потові залози помірно зморщені, у волосяних фолікулах ядра забарвлені інтенсивно та мають паличкоподібну форму. Судини дерми та підшкірно-жирової клітковини нерівномірно розширені, повнокровні. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології. Реактивні зміни (набряк, запалення) не виявлені.

Підгрупа A₄. Роговий шар шкіри збережений, представлений у вигляді дрібних фрагментів, що відшарувалися. Епідерміс на великому протязі

збережений, ядра клітин цього епідермісу є помірно гіперхромними та мають видовжену форму. Сосочки дерми згладжені та представлені у вигляді груп деформованих ядер клітин сполучної тканини. Колагенові волокна дерми місцями гомогенізовані, місцями випрямлені паралельно поверхні шкіри, зближені, помірно базофільні. Сальні та потові залози помірно зморщені. Судини дерми та підшкірно-жирової клітковини нерівномірно розширені, повнокровні. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології. Реактивні зміни (набряк, запалення) не виявлені (рис. 1).

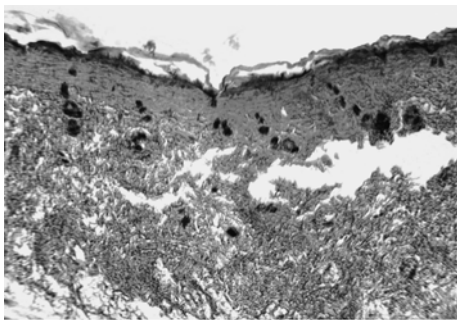


Рис. 1. Шкіра щура групи А (підгрупа А₄). Зональний коагуляційний некроз епідерміса та дерми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×100

Морфологічна характеристика тканин шкіри щурів на 1-шу добу після моделювання термічної травми (група В)

Підгрупа В₁. У тканинах опікових ран роговий шар шкіри представлений у вигляді пластів, що відшарувалися. Епідерміс та практично уся дерма некротизовані, з великою кількістю різнокаліберних пухирців, в порожнині яких виявляється гомогенний та зернистий вміст, блідо забарвлений еозином. Придатки шкіри (потові, сальні залози, волосяні фолікули) різко зморщені, ядра клітин різко пікнотичні і часто некротизовані. У підшкірно-жировій клітковині і перифокальній зоні виявляється різке повнокров'я судин зі змішаними тромбами і периваскулярними крововиливами. Поперечно-смугасті м'язові волокна без видимої патології.

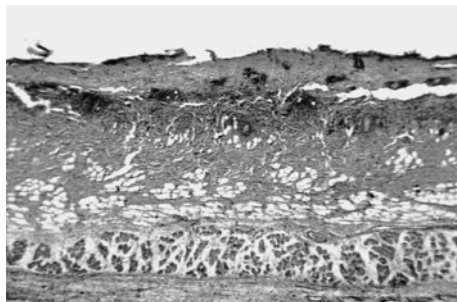


Рис. 2. Шкіра щура групи В (підгрупа В₄). Відшарування епідермісу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×100

Морфологічна характеристика тканин шкіри щурів на 3-тю добу після моделювання термічної травми (група С)

Підгрупа С₁. Практично весь епідерміс некротизований, відшарований і представлений у вигляді компактної тканини інтенсивно базофільного кольору з невиразною будовою. Сосочки дерми згладжені і представлені у вигляді груп деформованих ядер сполучної тканини. Колагенові волокна дерми гомогенізовані, випрямлені паралельно поверхні шкіри, зближені, інтенсивно базофільні.

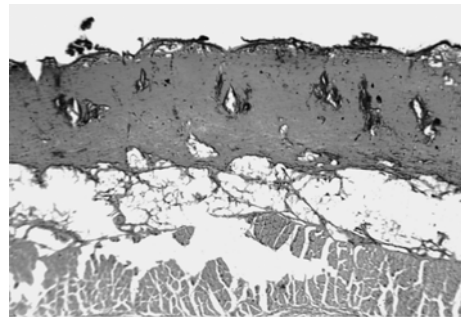


Рис. 3. Шкіра щура групи С (підгрупа С₄). Епідерміс, що зберігся; помірний субдермальний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×100

Морфологічна характеристика тканин шкіри щурів на 7-му добу після моделювання термічної травми (група D)

Підгрупа D₁. Структури епідермісу і дерми представлені сформованим товстим струпом. Епідерміс представлений безструктурною переривчастою базофільною смужкою. Дерма гомогенізована, різко базофільна. Придатки шкіри різко зморщені. Місцями виявляються залишки інтрадермальних пухирів і відшарування елементів дерми від підшкірно-жирової клітковини. У підшкірно-жировій клітковині і перифокальній зоні виявляється різке повнокров'я судин і інтенсивна лейкоцитарна інфільтрація. Поперечно-смугасті м'язові волокна без видимої патології.

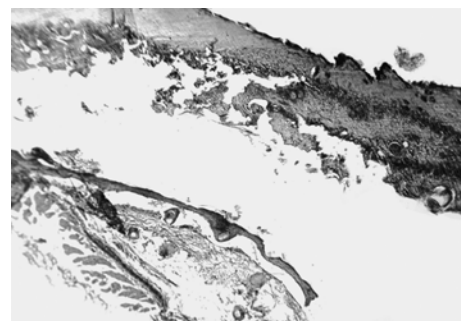


Рис. 4. Шкіра щура групи D (підгрупа D₄). Формування та відшарування тонкого струпа. Регенерація епідермісу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×100

Морфологічна характеристика тканин шкіри щурів на 14-ту добу після моделювання термічної травми (група E)

Підгрупа E₁. Структури епідермісу та дерми представлені сформованим товстим струпом, що відшаровується. Епідерміс представлений безструктурною переривчастою базофільною смужкою. Дерма гомогенізована, різко базофільна. Придатки шкіри різко зморщені. Місцями виявляються залишки інтрадермальних пухирів та відшарування елементів дерми від підшкірно-жирової клітковини. У підшкірно-жировій клітковині та перифокальній зоні виявляється повнокров'я судин та помірна лейкоцитарна інфільтрація. По краю перифокальної зони виявляється регенераторна активність елементів епідерміса та дерми. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології.

Підгрупа E₂. Структури епідермісу та дерми представлені сформованим струпом помірної товщини, який відшаровується. Епідерміс представлений безструктурною переривчастою базофільною смужкою. Дерма гомогенізована, помірно базофільна. Придатки шкіри місцями зморщені. У підшкірно-жировій клітковині та перифокальній зоні виявляється повнокров'я судин та помірна лейкоцитарна інфільтрація. По краю перифокальної зони виявляється інтенсивна регенераторна активність елементів епідерміса та дерми. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології.

Підгрупа E₃. Структури епідермісу та дерми представлені сформованим тонким струпом, який відшаровується. Дерма місцями гомогенізована, пухка, слабо базофільна. Придатки шкіри мають нормальний вигляд, ядра клітин є помірно гіперхромними. У підшкірно-жировій клітковині та перифокальній зоні виявляється повнокров'я судин та помірна лейкоцитарна інфільтрація. По краю перифокальної зони виявляється інтенсивна регенераторна активність елементів епідерміса та дерми. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології.

Підгрупа E₄. Структури епідерміса у процесі регенерації, який завершується. Дерма пухка, слабо базофільна. Придатки шкіри мають нормальний вигляд, ядра клітин помірно гіперхромні. У підшкірно-жировій клітковині та перифокальній зоні виявляється повнокров'я судин. Поперечно-посмуговані м'язові волокна без видимої патології (рис. 5).

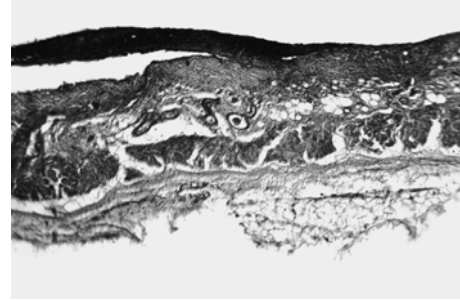


Рис. 5. Шкіра щура групи E (підгрупа E₄). Формування та відшарування тонкого струпа. Регенерація епідермісу. Забарвлення гематоксиліном та еозиним. $\times 100$

Висновки. Проаналізовано динаміку морфологічних змін у тканинах шкіри щурів при моделюванні опікової травми за умов різної тривалості термічного впливу та у різні строки від моменту постановки експерименту.

Експозиція термічного агента тривалістю 2 секунди викликає пошкодження структур шкіри легкого ступеню тяжкості з раннім та активним початком процесів регенерації.

Експозиція термічного агента тривалістю 5 секунд викликає пошкодження структур шкіри середнього ступеню тяжкості з достатньо раннім початком та активним рівнем процесів регенерації.

Експозиція термічного агента тривалістю 10 секунд викликає пошкодження структур шкіри середнього ступеню тяжкості з помірним уповільненням початку та зниженням інтенсивності процесів регенерації.

Експозиція термічного агента тривалістю 15 секунд викликає найбільш тяжке пошкодження структур шкіри з істотним уповільненням початку та зниженням інтенсивності процесів регенерації.

При моделюванні опіків у щурів виявлено чіткий прямий взаємозв'язок між тривалістю експозиції термічного агента та ступенем тяжкості пошкоджень структур шкіри у різні строки після термічної травми.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення морфології тканин шкіри щурів після моделювання опіків під впливом різних медичних та фармакологічних засобів при розробці критеріїв діагностики та методів профілактики загальних і місцевих гнійно-септичних ускладнень опікової хвороби.

References

1. Guzenko BV. Znachennya faktoriv ryzkyu v rozvytku uskladnen infektsiyno-zapalnogo genezu u tyazhko obpechennykh. *Zaporozhskyy medytsynskyy zhurnal*. 2013; 3: 17-20. [Ukrainian].
2. Denysenko SV. Bioetychne stavlennya do laboratornykh tvaryn u navchalnomu protsesi. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk ukrayinskoyi medychnoyi stomatologichnoyi akademiyi*. 2013; 13 (42): 242-5. [Ukrainian].
3. Yevropeyska konventsiya pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyutsya dlya doslidnytskykh abo inshykh naukovykh tsiley vid 18.03.1986: Verkhovna Rada Ukrayiny, ofitsiynyy veb-portal: Mizhnarodni dokumenty (Rada Yev-

ropy) [digital resource]. Available from: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0%F0%E8%ED&x=10&y=5> [Ukrainian].

4. Kozhem'yakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, Sayfetdinova GA. *Naukovo-praktychni rekomendatsiyi z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy*. K: Interservis, 2017. 179 s. [Ukrainian].
5. Kozynets GP, Tsygankov VP, Kovalenko OM. Suchasna infuziyna terapiya v opikovomu shotsi. *Ukrayinskyy zhurnal gematologiyi ta transfuziologiyi*. 2012; 4 (15): 39-42. [Ukrainian].
6. Korniyenko VV. Osoblyvosti regeneratyvnykh protsesiv v opikoviy rani tvaryn molodogo viku pry vykorystanni khitozanovykh plivok. *Svit medytsyny ta biologiyi*. 2014; 4 (46): 107-13. [Ukrainian].
7. Korobeynikova EP, Komarova EF. Laboratornye zhyvotnye – byomodely y test-systemy v fundamentalnykh y doklynycheskykh eksperymentakh v sootvetstvyi so standartamy nadlezhashchey laboratornoy praktyky (NLP/GLP). *Zhurnal fundamentalnoy medytsyny y byologyy*. 2016; 1: 30-6. [Russian].
8. Kravtsov AV. Uovershenstvovanye lechenyya ozhogov na osnove prymerenyya modyfytsirovannykh ksenotransplantatov. *Kharkivska khirurgichna shkola*. 2016; 3 (78): 123-7. [Russian].
9. Chernyakova GM, Minukhin VV, Voronin YeP. Suchasnyy poglyad na mistseve likuvannya opikov z infektsiynoyu skladovoyu. *Visnyk problem biologiyi i medytsyny*. 2016; 4 (133): 68-72. [Ukrainian].

УДК 616-001.17-018.7-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ КОЖИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ

Проценко Е. С., Кравцов А. В., Ремнева Н. А., Шаповал Е. В., Долгая О. В., Сазонова Т. М.

Резюме. В статье приведены результаты исследования морфологических изменений в тканях кожи крыс при моделировании ожоговой травмы при условии разного времени термического воздействия и в разные сроки от момента постановки эксперимента. Исследование было проведено на лабораторных крысах линии Вистар. Все манипуляции в ходе содержания и постановки эксперимента проводили в соответствии с общепринятыми биоэтическими принципами. Объектом исследования была кожа лабораторных животных, на которых экспериментально смоделировали ожоговую травму. Экспериментальных животных разделили на группы в зависимости от сроков после моделирования термического ожога. В каждой основной группе были выделены подгруппы в зависимости от продолжительности экспозиции термического агента. Группа контроля состояла из здоровых животных с неповрежденной кожей.

Проанализирована динамика морфологических изменений в тканях кожи крыс с экспериментальными ожоговыми ранами в условиях различной продолжительности термического воздействия и в разные сроки от момента постановки эксперимента. При моделировании ожогов у крыс выявлена четкая прямая взаимосвязь между продолжительностью экспозиции термического агента и степенью тяжести повреждений структур кожи в разные сроки после термической травмы.

Ключевые слова: ожоговая травма, эксперимент, моделирование ожогов, морфологические изменения.

UDC 616-001.17-018.7-092.9

MORPHOLOGICAL CHANGES IN SKIN TISSUES OF RATS IN MODELING OF BURN INJURIES

Protsenko E. S., Kravtsov A. V., Remnyova N. A., Shapoval E. V., Dolgaya O. V., Sazonova T. M.

Abstract. The conducted research is a fragment of the research work of the Department of General and Clinical Pathology of the School of Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University: "The development of criteria for diagnosis and methods for prevention of general and local purulent-septic complications of burn disease", state registration number 0116U000958.

The purpose of the study was to research the morphological features of changes in the skin tissues of rats during the simulation of burn injury in the conditions of different duration of thermal effects and at different times from the moment of the experiment.

Material and methods. This study was accomplished on laboratory rats of the Wistar line. All manipulations during maintenance and formulation of the experiment were carried out in accordance with generally accepted bioethical principles. The object of the study was the skin of laboratory animals, on which the burn injury was experimentally simulated.

Experimental animals were divided into 5 basic groups, depending on the terms after the simulation of thermal burns. Each basic group was divided into 4 subgroups depending on the duration of exposure of the thermal agent. The control group consisted of healthy animals with intact skin.

For microscopic examination pieces of damaged skin were cut on the verge of intact tissues. After microtomy according to the standard method, microscopy was performed microscopic examination, during which the general nature of skin damage, the state of the vascular bed, and the intensity of secondary changes (hemorrhage, necrosis, edema, inflammation) were evaluated.

We analyzed the dynamics of morphological changes in skin tissues of rats with experimental burn wounds in the conditions of varying duration of thermal influence and in different terms from the moment of the experiment.

Results and discussion. The exposure of a thermal agent during 2 seconds causes the mild degree of injuries of skin structures with early and active start of regeneration processes.

The exposure of a thermal agent during 5 seconds causes the middle degree of injuries of skin structures with sufficiently early start and active level of regeneration processes.

The exposure of a thermal agent during 10 seconds causes middle degree of injuries of skin structures with a moderate retardation of initiation time and a reduction in the intensity of regeneration processes.

The exposure of a thermal agent during 15 seconds causes the most serious injury of skin structures with a significant retardation of initiation time and a reduction in the intensity of regeneration processes.

Conclusions. In the modeling of burns in rats, a clear direct relationship was found between the duration of the exposure of the thermal agent and the severity of damages in the structures of the skin at different times after the thermal injury.

Keywords: burn injury, experiment, burn simulation, morphological changes.

Стаття надійшла 25.03.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування