

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТМОРОЖЕНИЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ. ЧАСТЬ 2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ УСТРОЙСТВА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ КОНТАКТНЫХ ОТМОРОЖЕНИЙ



А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед, Н. И. Прокопчик

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

*Введение.* Изучение новых способов лечения отморожений осуществимо при использовании экспериментальной модели, эффективность которой подтверждается морфологическими результатами.

*Цель исследования.* Морфологическое обоснование эффективности разработанного устройства для моделирования контактных отморожений разной степени тяжести.

*Материал и методы.* У 30 лабораторных крыс посредством сконструированного устройства выполнялось моделирование холодовой травмы разной степени тяжести. Производился забор материала для морфологического исследования при разных временных отрезках.

*Результаты.* Представлена морфологическая аргументация эффективности созданного устройства для воспроизведения как поверхностных, так и глубоких отморожений.

*Выводы.* Разработанное устройство не сложно в изготовлении, безопасно, позволяет воспроизводить стандартизированные контактные отморожения разной степени тяжести у лабораторных животных.

**Ключевые слова:** устройство, отморожения, морфология, эксперимент, крысы.

*Для цитирования:* Валентюкевич, А. Л. Экспериментальное моделирование отморожений различной степени тяжести у лабораторных животных. Часть 2. Морфологическая оценка эффективности устройства для моделирования контактных отморожений / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед, Н. И. Прокопчик // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2021. Т. 19, № 1. С.46-54. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54>.

### Введение

Локальное охлаждение – одно из самых частых экологических воздействий, которое периодически испытывает человек, в связи с чем проблема лечения местной холодовой травмы, несмотря на ее многолетнее изучение, актуальна как в мирное, так и в военное время [1, 2, 3]. Отморожение встречается значительно чаще, чем общее переохлаждение, поэтому несомненно актуальность разработки устройства с целью воспроизведения модели локальной криотравмы разной степени тяжести для изыскания новых методов местного лечения данного контингента пациентов. Описанные в предыдущем сообщении [4] способы моделирования отморожений имеют свои недостатки: при использовании металлической гирьки либо магнитов, охлажденных в жидком азоте, невозможно поддерживать постоянный температурный режим в месте соприкосновения хладагента с кожей [5, 6, 7, 8]; использование аппликаций или погружение сегмента животного в растворы с крайне низкой температурой не позволяет создать отморожение, стандартизированное по площади и глубине [9,10]; способы бесконтактного моделирования отморожений при помощи специальных аппаратов, создающих струю холодного газа, либо низкую температуру в холодовой камере экономически затратные, требуют особых навыков от исследователя [11, 12].

**Цель исследования** – морфологическое обоснование эффективности разработанного устройства для моделирования контактных отморожений кожи разной степени тяжести.

### Материал и методы

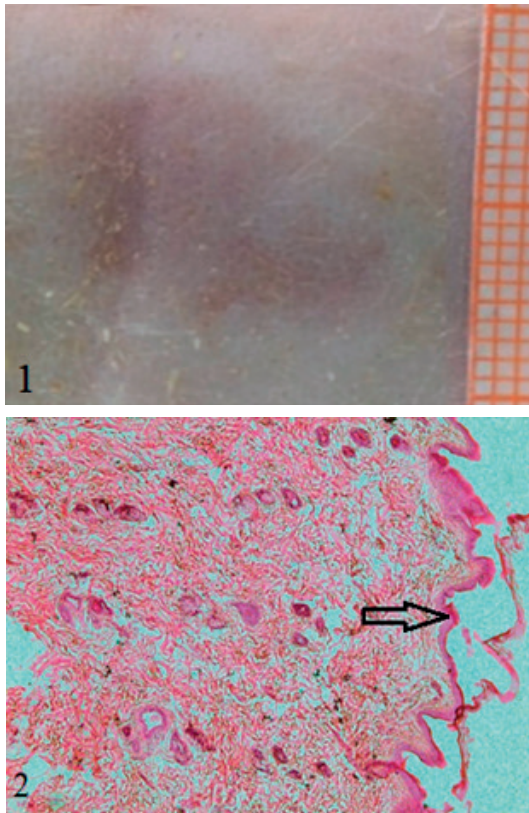
Исследование проведено на 30 белых лабораторных крысах. В предыдущем сообщении были представлены технические характеристики разработанного нами устройства для моделирования отморожений разной степени тяжести [13]. Форма и размеры контактирующей части устройства (диаметр 20 мм) обусловлены тем, что зоной моделирования контактного отморожения кожи была выбрана межлопаточная область (24-26 мм), что исключало холодовое воздействие на выступающие костные структуры (лопатки). Крысы выводились из эксперимента передозировкой эфира в разные сроки от моделирования криотравмы.

Забор материала осуществляли путем иссечения участков экспериментальных отморожений и прилежащих интактных тканей. Фрагменты фиксировали на 14 часов в 10% растворе формалина, которые после промывки проточной водой и обезвоживания заливались в парафин. Гистологические срезы толщиной 6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону.

### Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента установлено, что для создания поверхностного отморожения было достаточно 5-секундной экспозиции холодового воздействия, после чего кожа приобрела слегка белесоватый окрас, который сменялся незначительной гиперемией, ограниченной зоной воздействия. Через 1 час при гистологическом исследовании роговой слой эпидермиса был разрушен, местами частично отслоен от эпителия.

В подкожной клетчатке на границе с дермой определялось умеренно выраженное венозное полнокровие. Признаки некроза и воспалительные изменения в эпидермисе, дерме, подкожной клетчатке и мышечной ткани отсутствовали (рис. 1).



**Рисунок 1.** – Через 1 час после 5-секундного холодового воздействия область контактного отморожения (1) и гистологический срез (2) (на стрелке – эпидермис разрыхлен и частично отслоен).

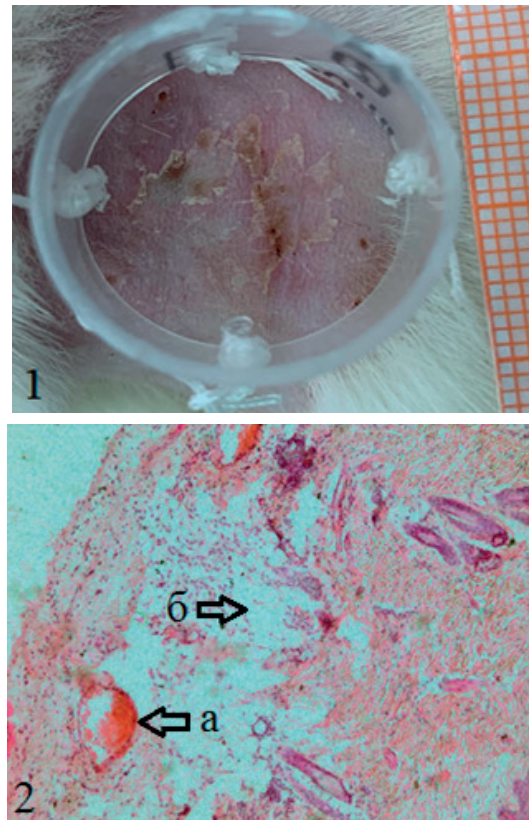
Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 1.** – 1 hour after 5-second cold exposure, the area of contact frostbite (1) and histological section (2) (on the arrow – the epidermis is loosened and partially exfoliated).

Env.: hematoxylin and eosin. ×100

На третьи сутки в месте нанесения отморожения имела место гиперемия, пастозность тканей. При микроскопическом исследовании роговой слой эпидермиса на большем протяжении отсутствовал (подвергся десквамации). Местами он сохранился, имел вид истонченной, частично отслоенной от эпидермиса полоски. Цитоплазма клеток эпидермиса тусклая, мутная, с признаками слабовыраженной гидропической дистрофии. Ядра клеток эпидермиса местами с признаками пикноза. В дерме и подкожной клетчатке определялось умеренно выраженное венозное полнокровие и слабо выраженный диффузный отек (рис. 2). На пятые сутки воспалительные проявления значительно уменьшились, на седьмые сутки кожные покровы легко собирались в складку, визуальнo не отличались от окружающих тканей.

Для моделирования глубокого отморожения было обосновано 30-секундное воздействие,



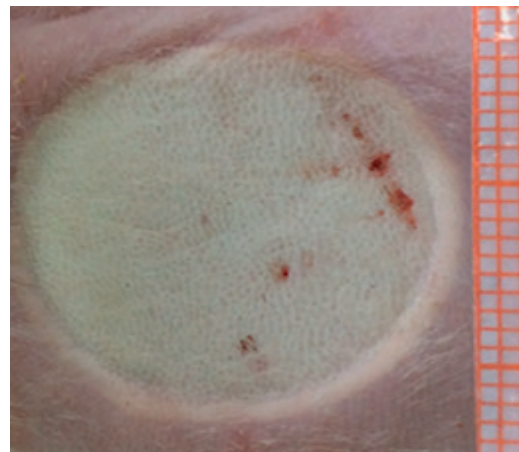
**Рисунок 2.** – Зона контактного отморожения (1) и гистологический срез (2) на третьи сутки после холодового воздействия (в дерме и подкожной клетчатке определяется венозное полнокровие (а) и отек (б)).

Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 2.** – Zone of contact frostbite (1) and histological section (2) on the 3rd day after cold exposure (in the dermis and subcutaneous tissue venous congestion (a) and edema (b) are determined).

Env.: hematoxylin and eosin. ×100

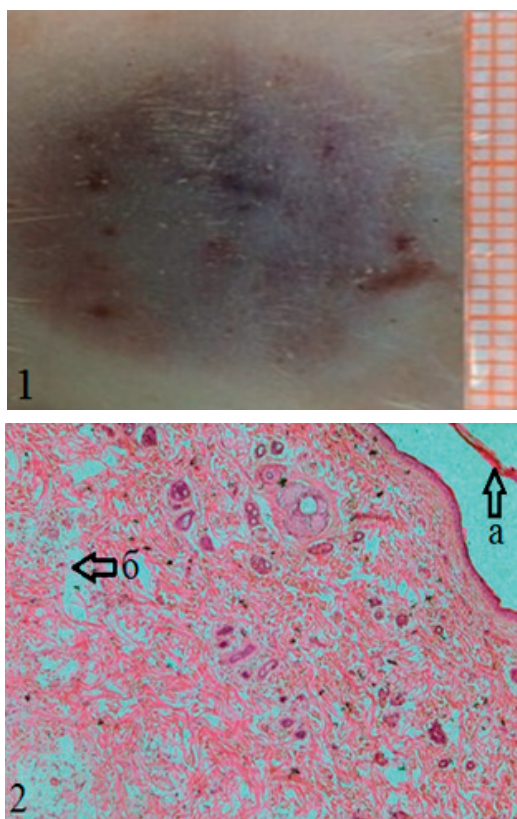
после чего зона криповреждения представляла собой гомогенную белую поверхность с единичными петехиями разного размера и ярко-белым ареолом перифокальной области (рис. 3).



**Рисунок 3.** – Область криповреждения после 30-секундной холодовой экспозиции  
**Figure 3.** – View of the rat's skin after a 30 second exposure



По истечении 30 минут белое пятно сменилось гиперемией, а через 1 час вся поверхность отморожения стала синюшного цвета, кожа практически на всем протяжении приобрела «гофрированный вид». Перифокальная зона была бледнее интактной кожи. Гистологически: роговой слой эпидермиса разрыхлен, повсеместно отслоен от эпителия за счет отека; цитоплазма эпителиальных клеток шиповатого слоя вакуолизована; ядра клеток базального и зернистого слоев местами с признаками кариопикноза. Дерма, подкожная клетчатка и подлежащая мышечная ткань с признаками отека, преимущественно в подкожной клетчатке, определялась слабовыраженная очаговая нейтрофильно-клеточная инфильтрация. Со стороны сосудов дермы отмечались явления полнокровия и стаза. Признаки некроза в эпителии, дерме, подкожной клетчатке и мышечной ткани через час после эксперимента не определялись (рис. 4).

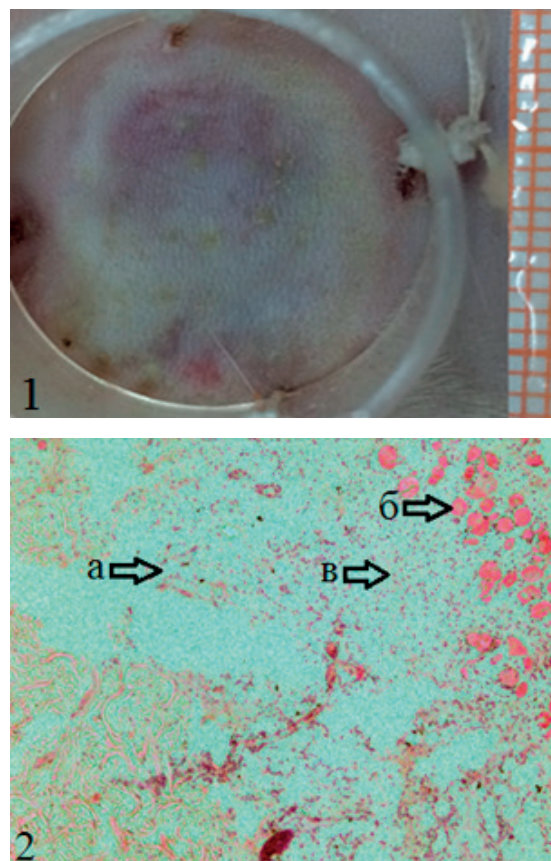


**Рисунок 4.** – Зона холодовой травмы (1) и гистологический срез (2) через 1 час после криовоздействия (эпидермис частично отслоен, с дистрофическими и некробиотическими изменениями (а); выраженный отек и очаговая лейкоцитарная инфильтрация дермы (б). Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 4.** – Zone of cold injury (1) and histological section (2) 1 hour after cryoinjury (the epidermis is partially exfoliated, with dystrophic and necrobiotic changes (a); pronounced edema and focal leukocytic infiltration of the dermis (b). Env.: hematoxylin and eosin. ×100

Через 24 часа после эксперимента область отморожения стала неоднородного окраса с очагами гиперемии разной интенсивности. Кожные покровы утолщены, отечны, с трудом собира-

ются в складку. Перифокальная зона бледнее интактной кожи. Микроскопически определялся диффузный коагуляционный некроз эпидермиса и подлежащей дермы с наличием перифокальной лейкоцитарной инфильтрации и отека. В подкожной клетчатке и мышечной ткани наблюдался диффузный некроз с наличием рассеянной лейкоцитарной инфильтрации, очаговых кровоизлияний и отека. В венозных сосудах имели место паретическое расширение, неравномерно выраженное полнокровие и стаз (рис. 5).



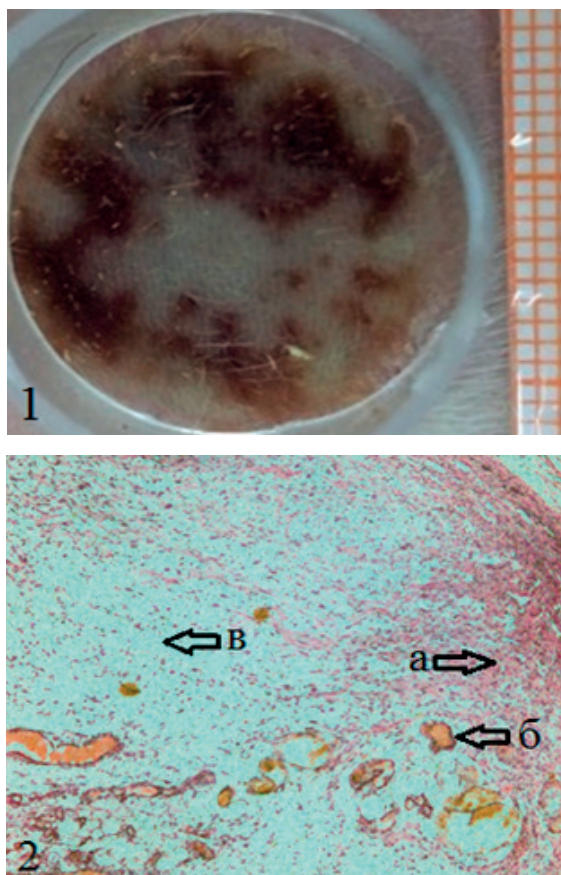
**Рисунок 5.** – Зона отморожения (1) и гистологический срез (2) через 24 часа после контактного холодового воздействия (некроз жировой (а) и мышечной ткани (б) с наличием умеренно выраженной диффузной лейкоцитарной инфильтрации (в).

Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 5.** – Frostbite zone (1) and histological section (2) 24 hours after contact cold exposure (necrosis of adipose (a) and muscle tissue (b) with the presence of moderately pronounced diffuse leukocytic infiltration (c). Env.: hematoxylin and eosin. ×100

На третьи сутки кожа в месте холодового воздействия стала бурого цвета, с четкими границами. Перифокальная зона бледнее интактной кожи на расстоянии 2 мм от зоны криповреждения. Кожные покровы в месте контактного отморожения резко утолщены, не смещаемы, в складку не собираются. Микроскопически в эпицентре определялись некротические массы в виде «островков», окруженные лейкоцитами. Эпидермис и дерма разрушены. Дно дефекта представлено подкожно-жировой клетчаткой и

мышечной тканью, в которых имеются отек и множественные очаги некроза. Венозные сосуды расширены, их стенки в состоянии мукоидного набухания. В перифокальной области эпидермис истончен, с выраженными дистрофическими изменениями; в подлежащих тканях определяется воспалительный инфильтрат, состоящий из нейтрофилов, макрофагов и плазматических клеток (рис. 6).



**Рисунок 6.** – Область отморожения (1) и гистологический срез (2) на третьи сутки после моделирования в дне дефекта определяется тканевой детрит (а), резко выраженное венозное полнокровие (б) и лейкоцитарная инфильтрация (в).

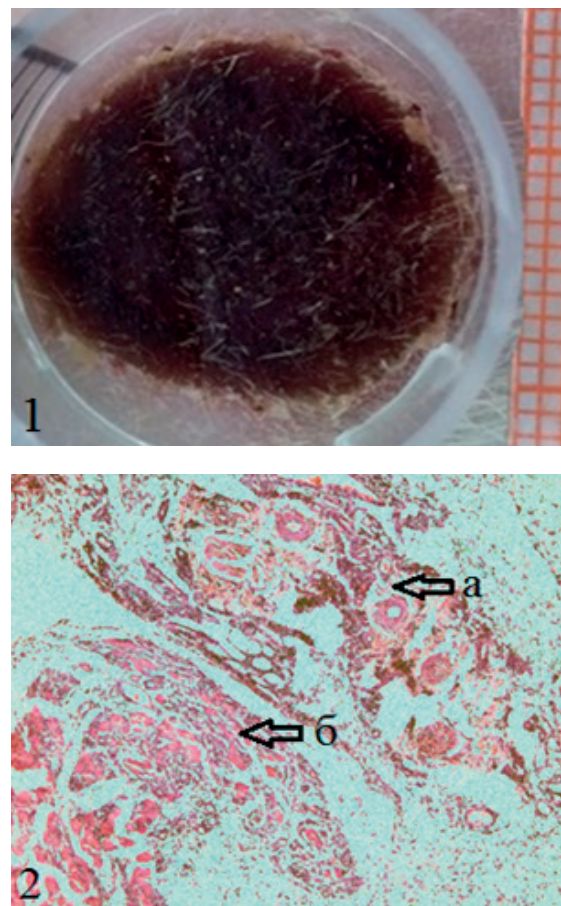
Окр.: гематоксилином и эозином.  $\times 100$

**Figure 6.** – Frostbite area (1) and histological section (2) on the 3rd day after modeling (tissue detritus (a), pronounced venous plethora (b) and leukocyte infiltration (c) are determined at the bottom of the defect.

Env.: hematoxylin and eosin.  $\times 100$

На пятые сутки в области отморожения определялся плотный струп бурого цвета, выполняющий всю поверхность контактного воздействия. Струп не смещался, в складку не собирался. Кожа вокруг струпа незначительно гиперемирована. По периферии струпа на всем протяжении определялось его отслоение от подлежащей кожи на расстоянии 1-3 мм от края. При дальнейшем отделении струпа травматизации подлежащих структур не происходило и в ране был светлый экссудат. При гистологическом исследовании установлено, что эпидермис и дерма не-

кротизированы. Дном дефекта служила жировая клетчатка и мышечная ткань, в которых имели место отек, по периферии – мелкие очаги формирования грануляционной ткани. Клеточный состав грануляционной ткани представлен преимущественно лимфоцитами, гистиоцитами и плазматическими клетками (рис. 7).



**Рисунок 7.** – Зона криовоздействия (1) и гистологический срез (2) на пятые сутки после моделирования отморожения (некроз жировой и мышечной ткани (а) с очагами формирования грануляционной ткани (б)).

Окр.: гематоксилином и эозином.  $\times 100$

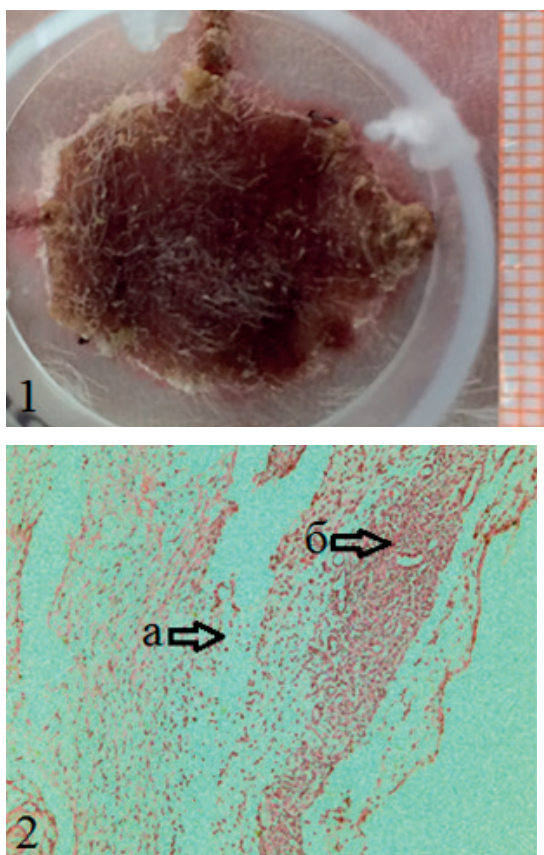
**Figure 7.** – Cryoinjury zone (1) and histological section (2) on the 5th day after frostbite (necrosis of adipose and muscle tissue (a) with foci of formation of granulation tissue (b).

Env.: hematoxylin and eosin.  $\times 100$

На седьмые сутки после холодового воздействия в области отморожения определялся темно-бурый плотный сухой струп, который по периферии отслаивался. При надавливании струп легко отделялся, обнажая подлежащие мышцы со скудным мутным отделяемым. Микроскопически в области холодового воздействия выявлялся глубокий очаг некроза с вовлечением в процесс кожи, подкожной клетчатки и мышечной ткани, с наличием неравномерно выраженной лейкоцитарной инфильтрации. Дерма и гиподерма представлены тканевым детритом, в котором невозможна дифференцировка на слои. Мышечная ткань со стертыми границами, при



этом миоциты некротизированы. Венозные сосуды расширены, их стенки в состоянии мукоидного и фибриноидного набухания. Имелись очаги формирования грануляционной ткани с множественными фибробластами, фиброцитами и вновь образованными сосудами. В перифокальной области обнаруживалась инфильтрация, представленная нейтрофилами, макрофагами и плазматическими клетками. В краях эпидермального пласта и дистальнее зоны некроза отмечалась очаговая гиперплазия эпидермиса, который в этих зонах имел признаки дистрофии и вакуолизации цитоплазмы (рис. 8).



**Рисунок 8.** – Область отморожения (1) и гистологический срез (2) на 7-е сутки после контактного холодового воздействия (лейкоцитарная инфильтрация (а) и полосовидное разрастание грануляционной ткани (б) в краях дефекта).

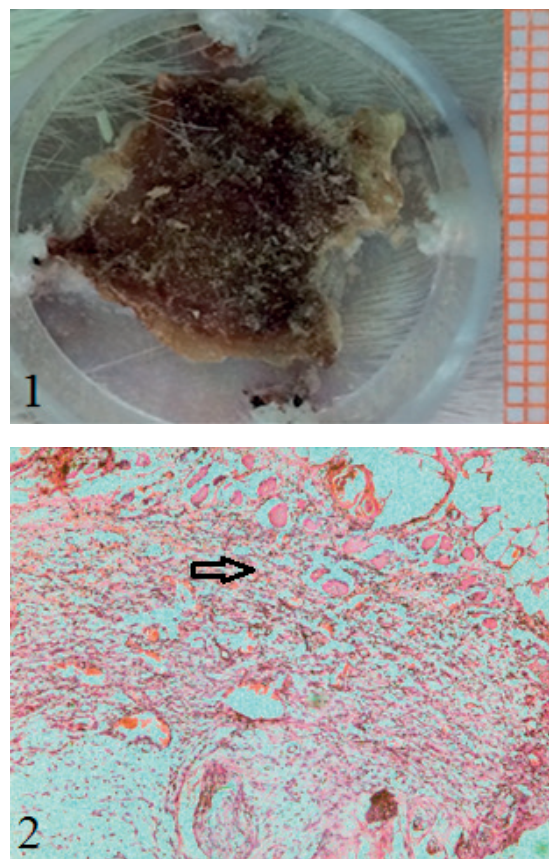
Окр.: гематоксилином и эозином.  $\times 100$

**Figure 8.** – Frostbite area (1) and histological section (2) on the 7th day after contact cold exposure (leukocyte infiltration (a) and strip-like growth of granulation tissue (b) at the edges of the defect).

Env.: hematoxylin and eosin.  $\times 100$

На 11 сутки после моделирования отморожения на поверхности раны сохранялся бурый сухой струп, отслаивающийся по периферии. При надавливании струп легко отделялся, обнажая рану с мутным экссудатом. По краям раны имелись признаки эпителизации. Рана медленно уменьшалась в размерах. Кожные покровы перифокальной зоны умеренно гиперемированы на расстоянии 2 мм от края. При гистологическом

исследовании в зоне холодого воздействия визуализировался тканевой детрит с очагами гнойного воспаления, в который были вовлечены кожа, подкожная клетчатка и мышечный слой. Эпителизация раны определялась лишь по периферии, в краях дефекта – молодая соединительная ткань с признаками отека и венозного полнокровия, богатая сосудами и клетками (фибробластами и фиброцитами). Волокна соединительной ткани располагались хаотично (рис. 9).



**Рисунок 9.** – Зона отморожения (1) и гистологический срез (2) на 11 сутки после контактного холодового воздействия (на стрелке – разрастание молодой соединительной ткани в области дефекта).

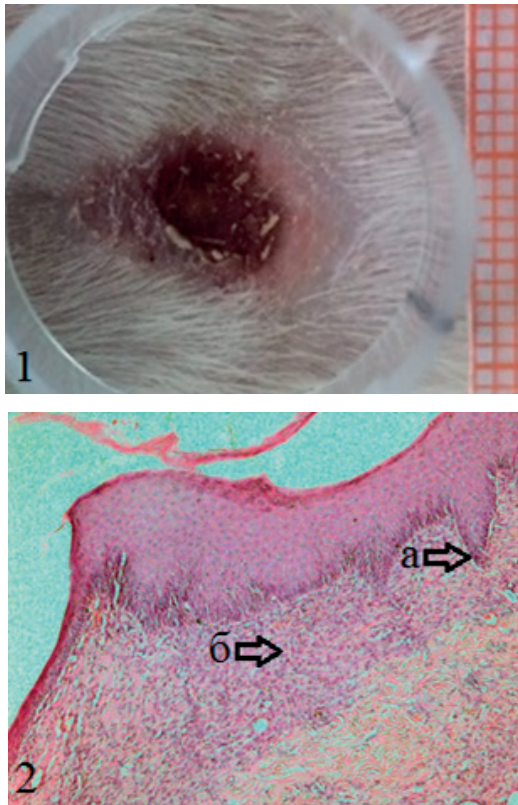
Окр.: гематоксилином и эозином.  $\times 100$

**Figure 9.** – Frostbite zone (1) and histological section (2) on the 11th day after contact cold exposure (arrow shows the growth of young connective tissue in the area of the defect).

Env.: hematoxylin and eosin.  $\times 100$

К 17 суткам эксперимента раневая поверхность значительно уменьшилась в размерах, была покрыта легко отделяющимся струпом, обнажающим темно-красную, легко кровоточащую раневую поверхность с незначительной мутной экссудацией. Кожные покровы вокруг раны слегка гиперемированы. Микроскопически рана характеризовалась уменьшением площади детрита. Сформировалась демаркационная линия, отграничивающая детрит от окружающих тканей и представляющая собой широкий пласт молодой грануляционной ткани. Волокна ее расположены хаотично, она богата тонкостенными

сосудами венозного типа и тяжами фибробластов. Дном дефекта была молодая соединительная ткань, на большом протяжении покрытая эпидермисом. Продолжалась эпидермизация раневого дефекта. Эпидермис неравномерной толщины с пальцевидными утолщениями в краях и участками гиперплазии. Однако в эпидермисе кое-где определялись лейкоцитарная инфильтрация и обилие вновь образованных сосудов. Эпидермис в краях раны и на некотором протяжении значительно утолщен (в 3-4 раза), с признаками акантоза, паракератоза и спонгиоза. Количество рядов клеток шиповатого слоя варьировало от 2-3 до 7-9. В основании локусов гиперплазии эпидермиса были расположены островки созревающей грануляционной ткани. Вне их определялся тонкий слой коллагеновых и эластических волокон, между которыми обнаруживались очаговые скопления фибробластов (рис. 10).

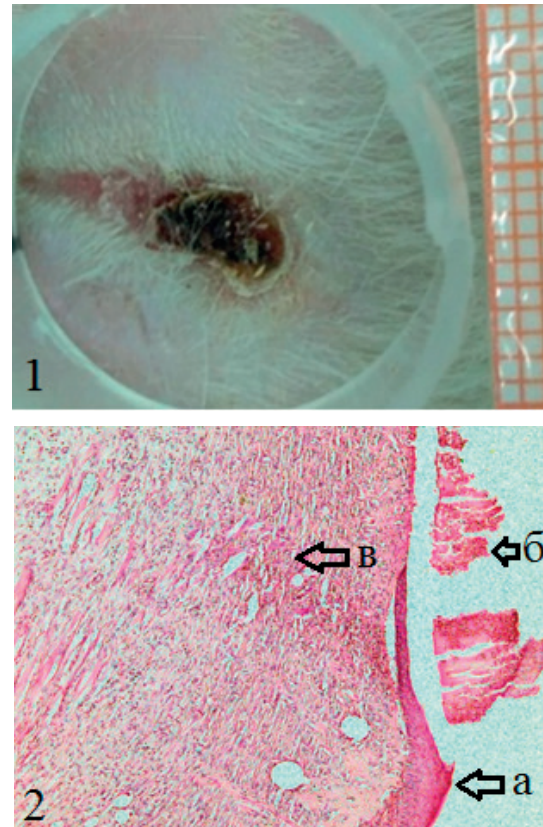


**Рисунок 10.** – Область криовоздействия (1) и гистологический срез (2) на 17 сутки после моделирования отморожения (гиперпластические изменения эпидермиса в крае раны с акантозом (а); островки созревающей грануляционной ткани в основании локусов эпидермиса (б)). Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 10.** – Cryoexposure area (1) and histological section (2) on the 17th day after modeling frostbite (hyperplastic changes in the epidermis at the edge of the wound with acanthosis (a); islands of maturing granulation tissue at the base of the epidermal loci (b) Env.: hematoxylin and eosin. ×100

К 21 суткам эксперимента в центре холодового воздействия имелся дефект мягких тканей, покрытый плотной коркой. Кожные покровы вокруг раневого дефекта не изменены. При ги-

стологическом исследовании рана имела признаки эпителизации, эпидермис неодинаковой толщины с очаговым акантозом и паракератозом. Имевший место незначительный по объему очаг некроза окружен формирующейся молодой соединительной тканью, которая неравномерно инфильтрирована значительным количеством гранулоцитов и агранулоцитов. Соединительная ткань, окружающая зону некроза, рыхлая, отечная, «выталкивает» некротические массы на поверхность. В подкожной клетчатке определялось значительное количество фиброцитов с примесью лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток (рис. 11).



**Рисунок 11.** – Зона отморожения (1) и гистологический срез (2) на 21 сутки после контактного холодового воздействия (эпидермис разной толщины (а) с наличием с очага некроза (б) на его поверхности; разрастание молодой соединительной ткани (в) в подлежащих слоях дермы и подкожной клетчатки).

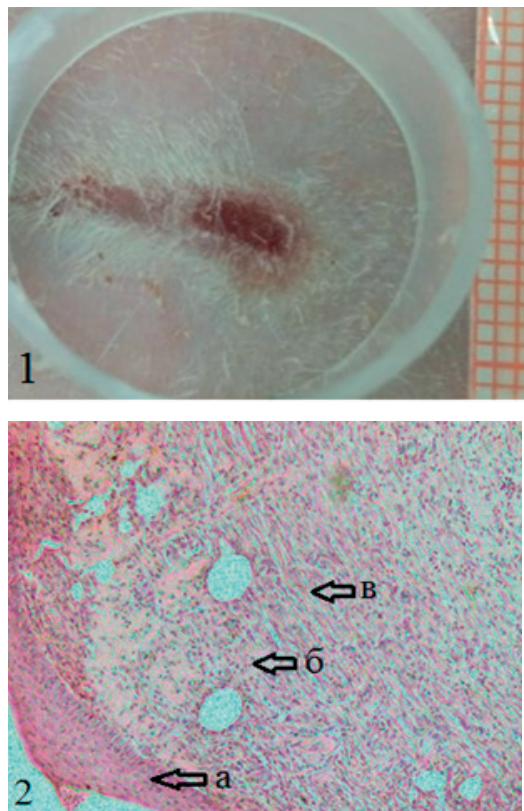
Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 11.** – Frostbite zone (1) and histological section (2) on the 21st day after contact cold exposure (different thickness of epidermis (a) with the presence of necrosis from the focus (b) on its surface; growth of young connective tissue (c) in the underlying layers of the dermis and subcutaneous tissue. Env.: hematoxylin and eosin. ×100

К 23 суткам после моделирования отморожения рана уменьшилась до 3 мм в диаметре. Наблюдалась эпителизация, однако в центре сохранялся небольшой дефект эпидермиса, покрытый тонкой прозрачной коркой. Периферическая зона не изменена, отмечался активный рост шерсти вокруг дефекта. При микроскопическом исследовании установлено, что рана эпи-



телизировалась на значительном протяжении. Эпидермис неравномерной толщины (местами утолщен в 2-3 раза), акантоз отсутствует, паракератоз – очаговый, слабо выраженный. В дерме присутствовали зрелая соединительная ткань и тонкие неориентированные пучки коллагеновых волокон. Среди подкожной клетчатки и мышечной ткани определялось умеренное количество фибробластов, местами – лимфоцитов и гистиоцитов, отмечалось формирование коллагеновых волокон (рис. 12).

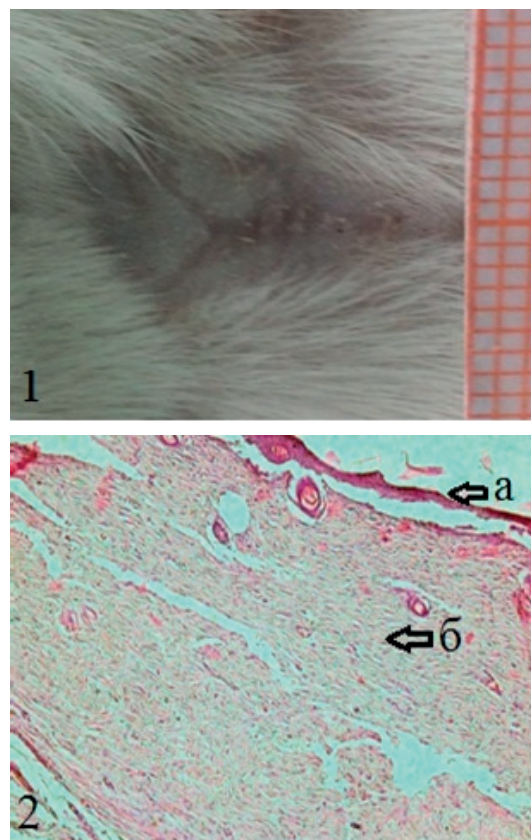


**Рисунок 12.** – Область отморожения (1) и гистологический срез (2) на 23 сутки после контактного холодового воздействия (неравномерная эпителизация (а); зрелая соединительная ткань (б) и тонкие пучки коллагеновых волокон в дерме (в)).

Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 12.** – Frostbite area (1) and histological section (2) on the 23rd day after contact cold exposure (uneven epithelialization (a); mature connective tissue (b) and thin bundles of collagen fibers in the dermis (c). Env.: hematoxylin and eosin. ×100

К 27 суткам эксперимента рана полностью эпителизирована, имелся сформированный рубец. Кожные покровы вокруг рубца не изменены. При гистологическом исследовании наблюдалась полная эпителизация раневой поверхности. Эпидермис неравномерно утолщен, более дифференцирован. Лейкоцитарная инфильтрация отсутствовала. В дерме разрасталась зрелая соединительная ткань с обычным клеточным составом, с упорядоченным расположением волокон. В подкожной клетчатке и мышечной ткани определялись клеточные элементы фибробластического ряда и сформированные коллагеновые волокна (рис. 13).



**Рисунок 13.** – Зона криповреждения (1) и гистологический срез (2) на 27 сутки после холодового воздействия (рана эпителизовалась (а), коллагеновые волокна в дерме располагаются упорядоченно (б), воспалительная инфильтрация отсутствует).

Окр.: гематоксилином и эозином. ×100

**Figure 13.** – Cryodamage zone (1) and histological section (2) on day 27 after cold exposure (the wound was epidermized (a), collagen fibers in the dermis are arranged in an orderly manner (b), there is no inflammatory infiltration.

Env.: hematoxylin and eosin. ×100

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента лабораторным животным нанесены как поверхностные, так и глубокие контактные отморожения. Глубина повреждения подтверждалась развитием прогрессирующего некроза, распространяющегося на всю толщу кожи, подкожной клетчатки, захватывающего мышечную ткань. В пограничной некрозу области также развивались очаги фибриноидного некроза, дистония сосудов, запустевание паретически расширенных и спавшихся сосудов, выраженная пролиферация эндотелия сосудов вплоть до их облитерации.

### Заключение

Разработанное устройство для моделирования контактных отморожений разной степени тяжести материально не затратно при изготовлении, безопасно и несложно при эксплуатации, позволяет воспроизводить стандартизированные контактные отморожения разной степени тяжести у лабораторных животных.

## Литература

- Сизоненко, В. А. Холодовая травма / В. А. Сизоненко. – Чита : Экспресс-издательство, 2010. – 324 с.
- Локальная холодовая травма: вопросы патогенеза, оценки тяжести и лечения / Ю. С. Винник [и др.] // Московский хирургический журнал. – 2011. – № 1. – С. 42-48.
- Hutchison, R. L. Frostbite of the hand / R. L. Hutchison // *Journal of Hand Surgery*. – 2014. – Vol. 39, № 9. – P. 1863-1868. – doi: 10.1016/j.jhsa.2014.01.035.
- Валентюкевич, А. Л. Экспериментальное моделирование отморожений различной степени тяжести. Часть 1. Разработка и технические характеристики устройств / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед, А. А. Островский // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2020. – Т. 18, № 6. – С. 722-726. – <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-6-722-726>.
- Клименко, Н. А. Морфологическая характеристика динамики воспалительно-репаративного процесса после локальной холодовой травмы в условиях острой и хронической алкогольной интоксикации / Н. А. Клименко, Л. В. Леонтьева // *Медицина сегодня и завтра*. – 2011. – № 3 (52). – С. 33-38.
- Фармакологическая коррекция морфологических изменений экспериментального отморожения / В. А. Лазаренко [и др.] // *Ученые записки Орловского государственного университета*. – 2013. – № 6. – С. 218-227.
- A novel mouse model for frostbite injury / L. J. Auerbach [et al.] // *Wilderness and Environmental Medicine*. – 2013. – № 24 (2). – P. 9-104.
- Protective Effect of Extract of Ginkgo biloba 761 against Frostbite Injury in Rats / T. Aizawa [et al.] // *Plastic Reconstructive Surgery*. – 2019. – № 143 (6). – P. 1657-1664. – doi: 10.1097/PRS.0000000000005648.
- Nanostructured lipid carrier based topical gel of Ganoderma Triterpenoids for frostbite treatment / Sh. Cheng-Ying [et al.] // *Chinese Journal of Natural Medicines*. – 2015. – № 13. – P. 454-460.
- Effects of low-frequency pulsed electromagnetic fields on plateau frostbite healing in rats / M. Jiao [et al.] // *Wound Repair and Regeneration*. – 2016. – № 24 (6). – P. 1015-1022. – doi: 10.1111/wrr.12487.
- Determination of microcirculatory changes and angiogenesis in a model of frostbite injury in vivo / O. Goertz [et al.] // *Journal of Surgical Research*. – 2011. – № 168 (1). – P. 155-161. – doi: 10.1016/j.jss.2009.07.012.
- Pathophysiologic Determination of frostbite under high altitude environment simulation in sprague-dawley rats / J. Hu [et al.] // *Wilderness and Environmental Medicine*. – 2016. – № 27 (3). – P. 355-363. – doi: 10.1016/j.wem.2016.03.004.
- Устройство для моделирования отморожений различной степени тяжести : патент ВУ 12002 / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед. – Оpubл. 01.04.2019.
- Moskovskij hirurgicheskij zhurnal [Moscow Surgical Journal]. 2011;(1):42-48. (Russian).
- Hutchison RL. Frostbite of the hand. *Journal of Hand Surgery*. 2014;39(9):1863-1868. doi: 10.1016/j.jhsa.2014.01.035.
- Valentyukevich AL, Melamed VD, Ostrovsky AA. Jeksperimentalnoe modelirovanie otmorozhenij razlichnoj stepeni tjazhesti [Experimental modeling of frostbites of varying severity in laboratory animals. Part 1. Development and technical characteristics of devices]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo univer-siteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2020;18(6):722-726. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-6-722-726>. (Russian).
- Klimenko NA, Leontyeva LV. Morfologicheskaja harakteristika dinamiki vospalitelno-reparativnogo processa posle lokalnoj holodovoj travmy v uslovijah ostroj i hronicheskoy alkogolnoj intoksikacii [Morphological characteristics of inflammatory reparative process dynamics after local cold trauma on background of acute and chronic alcoholic intoxication]. *Medycyna soganini i zavtra*. 2011;3(52):33-38. (Russian).
- Lazarenko VA, Artyushkova EB, Mishustin VN, Goryainova GN, Monovtsov IA, Kvachakhy LL, Chigunadze AL. Farmakologicheskaja korekcija morfolozicheskikh izmenenij jeksperimentalnogo otmorozhenija [Pharmacological correction of morphological changes in experimental frostbite injury]. *Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta* [Scientific Notes of Orel State University]. 2013;(6):218-227. (Russian).
- Auerbach LJ, Galvez MG, Clerck BK, Wehner MR, Chang EI, Gurtner GC, Auerbach PS. A novel mouse model for frostbite injury. *Wilderness and Environmental Medicine*. 2013;24(2):94-104. doi: 10.1016/j.wem.2012.11.020.
- Aizawa T, Kuwabara M, Kubo S, Aoki S, Azuma R, Kiyosawa T. Protective Effect of Extract of Ginkgo biloba 761 against Frostbite Injury in Rats. *Plastic Reconstructive Surgery*. 2019;143(6):1657-1664. doi: 10.1097/PRS.0000000000005648.
- Cheng-Ying Sh, Ling D, Bao-De Sh, Xu Zh, Jin-Xia B, He X, Qing-Yuan L, Jin H, Hai-Long Yu. Nanostructured lipid carrier based topical gel of Ganoderma Triterpenoids for frostbite treatment. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2015;13(6):454-460.
- Jiao M, Lou L, Jiao L, Hu J, Zhang P, Wang Z, Xu W, Geng X, Song H. Effects of low-frequency pulsed electromagnetic fields on plateau frostbite healing in rats. *Wound Repair and Regeneration*. 2016;24(6):1015-1022. doi: 10.1111/wrr.12487.
- Goertz O, Baerreiter S, Ring A, Jettkant B, Hirsch T, Daigeler A, Steinau HU, Langer S. Determination of microcirculatory changes and angiogenesis in a model of frostbite injury in vivo. *Journal of Surgical Research*. 2011;168(1):155-161. doi: 10.1016/j.jss.2009.07.012.
- Hu J, Li H, Geng X, Jiao L, Song H, Lou L, Jiao M. Pathophysiologic Determination of Frostbite under High Altitude Environment Simulation in Sprague-Dawley Rats. *Wilderness and Environmental Medicine*. 2016;27(3):355-363. doi: 10.1016/j.wem.2016.03.004.
- Valentyukevich AL, Melamed VD, inventors; Grodno State Medical University, assignee. *A device for modeling frostbite of varying severity*. BY patent 12002. 2019 Apr 01. (Russian).

## References

- Sizonenko VA. *Holodovaja travma*. Chita: Jekspress-izdatelstvo; 2010. 324. p. (Russian).
- Vinnik YuS, Salmina AB, Yurieva MYu, Teplyakova OV. Lokalnaja holodovaja travma: voprosy patogeneza, ocenki tjazhesti i lechenija [The local cold-trauma: the problems of pathogenesis, estimation of heaviness and treatment].



**EXPERIMENTAL MODELING OF FROSTBITES OF VARYING SEVERITY IN LABORATORY ANIMALS.  
PART 2. MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF THE DEVICE FOR SIMULATING CONTACT FROSTBITE**

**A. L. Valentyukevich, V. D. Melamed, N. I. Prokopchik**  
*Grodno State Medical University, Grodno, Belarus*

---

*Background.* The study of new methods of treating frostbite is feasible using an experimental model, the effectiveness of which is confirmed by morphological results.

*Purpose of the study.* Morphological substantiation of the effectiveness of the developed device for simulating contact frostbites of varying severity.

*Material and methods.* In 30 laboratory rats, the designed device was used to simulate cold trauma of varying severity. The material for morphological research was collected at different time intervals.

*Results.* Morphological argumentation of the effectiveness of the created device for reproducing both superficial and deep frostbites is presented.

*Conclusions.* The developed device is not difficult to manufacture; it is safe and allows reproducing standardized contact frostbites of varying severity in laboratory animals.

**Keywords:** device, frostbite, morphology, experiment, rats.

**For citation:** Valentyukevich AL, Melamed VD, Prokopchik NI. Experimental modeling of frostbites of varying severity in laboratory animals. Part 2. Morphological assessment of device effectiveness for simulating contact frostbite. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2021;19(1):46-54. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-46-54>.

---

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

**Об авторах / About the authors**

\*Валентюкевич Артем Леонидович / Valentyukevich Artem, e-mail: [artem.valentyukevich@mail.ru](mailto:artem.valentyukevich@mail.ru), ORCID: 0000-0002-8994-5179.

Меламед Владимир Дмитриевич / Melamed Vladimir, e-mail: [allotransplan@mail.ru](mailto:allotransplan@mail.ru), ORCID: 0000-0002-9965-4973.

Прокопчик Николай Иванович / Prokopchik Nikolay, e-mail: [prokopni@mail.ru](mailto:prokopni@mail.ru), ORCID: 0000-0001-9319-9896.

\* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

*Поступила / Received:* 28.10.2020

*Принята к публикации / Accepted for publication:* 21.01.2021