

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТМОРОЖЕНИЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Часть 1. Разработка и технические характеристики устройств

¹Валентюкевич А. Л., ¹Меламед В. Д., ²Островский А. А.

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

Введение. В современной медицине проблема лечения отморожений остается актуальной и требует дальнейшего изучения. В связи с этим возникла необходимость достоверной экспериментальной модели холодовой травмы.

Цель исследования. Создание устройств, позволяющих моделировать как контактные отморожения, так и их сочетание с общим переохлаждением у лабораторных животных.

Материал и методы. У лабораторных крыс под эфирным наркозом выполнялось моделирование разных видов холодовой травмы разработанными устройствами оригинальной конструкции.

Результаты. Проанализированы существующие способы моделирования отморожений. Разработаны устройства как для воспроизведения контактных отморожений, так и в сочетании с общим переохлаждением у лабораторных животных.

Выводы. Разработанные устройства для моделирования холодовой травмы могут быть использованы для изучения вопросов патогенеза, клиники и лечения криоповреждений в интересах поставленных экспериментом задач.

Ключевые слова: устройства, отморожения, холодовая травма, эксперимент, крысы.

Для цитирования: Валентюкевич, А. Л. Экспериментальное моделирование отморожений разной степени тяжести у лабораторных животных. 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>.

Введение

Лечение и профилактика холодовой травмы остается одной из сложных медико-социальных проблем. Несмотря на относительно благоприятные климатические условия Беларуси, общее переохлаждение и местные отморожения – нередкая патология в осенне-зимний период. Необходимо отметить, что подавляющее большинство пораженных (около 60%) – это лица трудоспособного возраста [1, 2].

Холодовая травма может манифестироваться как общим переохлаждением организма, так и повреждением изолированных участков тела. Для изучения вопросов патогенеза, диагностики и лечения криоповреждений крайне актуальна разработка экспериментальных моделей.

В литературе описаны разные методы моделирования общего переохлаждения. Лабораторных крыс укладывали в индивидуальные пеналы и помещали в морозильную камеру при температуре -18°C на 3 часа [3].

Известно моделирование отморожений в условиях гипоксии. Для этого использовали специальную камеру с низким содержанием кислорода, в которой наносили отморожения при помощи прямого воздействия жидким азотом [4].

Остается достаточно много нерешенных вопросов эффективности местного лечения отморожений при наличии общего переохлаждения пострадавшего [5]. В доступной литературе не найдено описания экспериментальной модели отморожения в сочетании с общим переохлаждением.

Значительно большее количество исследований было направлено на моделирование ло-

кальных отморожений с повреждением кожных покровов, которые создавались разными холодовыми агентами. Достаточно распространен способ моделирования криотравмы контактным способом посредством стальной гирьки, предварительно охлажденной жидким азотом [6, 7]. Известен метод моделирования контактного отморожения посредством двух охлажденных металлических магнитов округлой формы, которые прикладывали с обеих сторон конечности или кожной складки спины. После нагревания охлаждающего элемента производилась смена магнитов на вновь охлажденные [8, 9]. Для воспроизведения отморожений возможно использование охлажденного раствора этанола или жидкого азота, в которые погружали конечность лабораторного животного [10]. Для моделирования контактных отморожений применяли аппликации на кожу животного марли, пропитанной жидким азотом [11]. Ряд исследователей для создания локальной холодовой травмы использовали бесконтактную схему, когда посредством специальных приборов воздействовали парами жидкого азота на депилированный участок кожи подопытного животного [12, 13].

Нами разработаны устройства для моделирования изолированных отморожений, а также их сочетание с общим переохлаждением.

Цель исследования – создание устройств, позволяющих моделировать как контактные отморожения, так и их сочетание с общим переохлаждением у лабораторных животных.

Материал и методы

Исследование по созданию устройств для экспериментального моделирования как кон-

тактных отморожений, так и в сочетании с общим переохлаждением, проведено на 60 белых лабораторных крысах в возрасте 5-7 месяцев массой тела 210 ± 27 граммов. Подопытные животные находились на стандартном рационе питания. Эксперимент проводился в условиях операционной вивария УО «Гродненский государственный медицинский университет». Работа с животными проведена с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований» УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 30.01.2018), а также в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Все этапы эксперимента проводились по собственной разработанной схеме с использованием эфирного наркоза по закрытому контуру.

Результаты и обсуждение

Было сконструировано устройство для моделирования контактных отморожений у лабораторных животных [14] в виде медного холодового контейнера (рис. 1, 2) в форме закрытого цилиндра (3), с впаянными входной (4) и выходной канюлями (6). К входной канюле подсоединен шприц без поршня (5), к выходной – полихлорвиниловая трубка (7) с надетым на нее зажимающим устройством (10). Все элементы, кроме нижней части емкости и выводной трубки (7), теплоизолированы войлоком (1) и алюминиевой фольгой (2). Для фиксации температуры холодового раствора в цилиндре использовались терморезистор (8) и цифровой мультиметр (9). Неплохоизолированной частью холодной контейнер (3) прикладывали к коже крысы с 30-минутной экспозицией. Холодовой раствор (использовали 40° охлажденный спиртовой раствор) через шприц (5), поступал в холодовой контейнер (3), где поддерживалась его циркуляция при помощи зажимающего устройства (10).

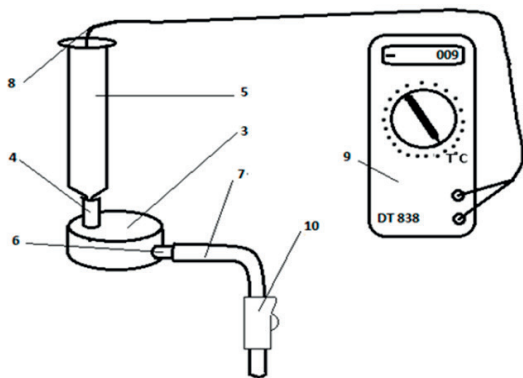


Рисунок 1. – Устройство для моделирования отморожений у лабораторных животных (описание в тексте)
Figure 1. – Device for modeling frostbites at laboratory animals (description in text)

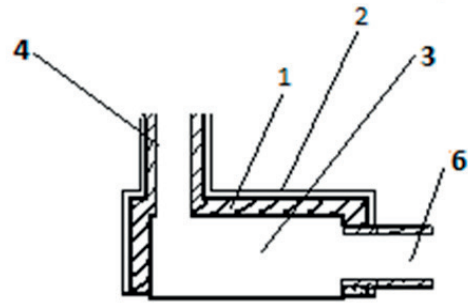


Рисунок 2. – Устройство для моделирования отморожений у лабораторных животных в разрезе (описание в тексте)

Figure 2. – Device for modeling frostbites at laboratory animals in a section (description in text)

В дальнейшем вышеописанное устройство было дополнено криокамерой (рис. 3), изготовленной из теплоизоляционного материала и представленной в виде параллелепипеда [15]. В верхней части криокамеры расположено съемное стеклянное окно (12) для наблюдения за экспериментальным животным. В боковой (15) и верхней (14) стенках имеются отверстия для интеграции описанного ранее холодового устройства внутрь криокамеры. В передней стенке имеется отверстие (13) для последующего подведения наркозной маски к голове лабораторной крысы.

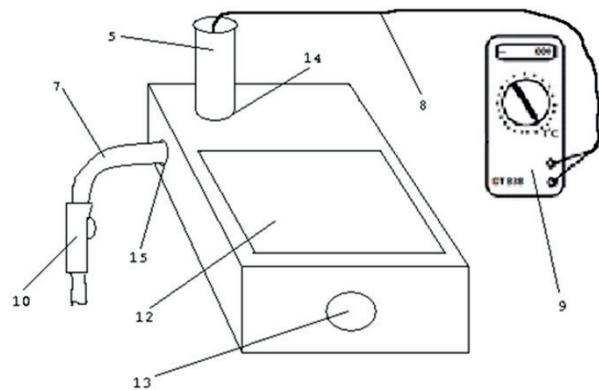


Рисунок 3. – Криокамера для создания отморожений разной степени тяжести у лабораторных животных (описание в тексте)

Figure 3. – Cryochamber for creating frostbites of varying severity at laboratory animals (description in text)

Дно криокамеры заполнялось фрагментами льда для создания низкой температуры, наркотизированная крыса укладывалась внутрь. В холодовой контейнер подавался охлажденный спиртовой раствор и производилось контактное холодовое воздействие на кожу крысы.

При последующих разработках криокамера была модернизирована закрытой системой циркуляции холодового раствора с использованием компрессора [16].

Исходя из целей исследования, посвященного местному лечению холодовой травмы, было создано устройство [17], состоящее из (рис. 4, 5) холодового контейнера (1) в форме закрыто-

го цилиндра, выполненного из меди, так как последняя обладает высокой теплопроводностью, что обеспечивает равномерное охлаждение всей поверхности, непосредственно контактирующей с кожей лабораторного животного. В верхнем основании цилиндра впаяна медная канюля (2) для введения холодового раствора жидкого азота (удельная плотность $0,808 \text{ г/см}^3$, точка кипения $77,4 \text{ К}$ ($-195,75^\circ\text{C}$), поскольку закрытая система предотвращает его быстрое испарение, что позволяет достичь глубоких отморожений за короткий временной промежуток.

Устройство оснащено рукояткой (3), размеры которой обусловлены параметрами средне-статической кисти человека, что обеспечивало свободное манипулирование устройством, исключало нежелательное холодовое воздействие на исследователя. Все элементы, кроме нижней части емкости, теплоизолированы войлоком (4) толщиной 5 мм и алюминиевой фольгой (5).

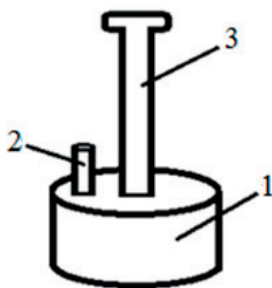


Рисунок 4. – Устройство для моделирования отморожений разной степени тяжести (описание в тексте)
Figure 4. – Device for modeling frostbites of varying severity (description in text)

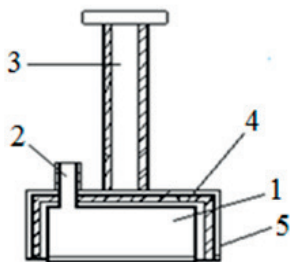


Рисунок 5. – Устройство для моделирования отморожений разной степени тяжести в разрезе (описание в тексте)
Figure 5. – Device for simulating frostbites of varying severity in a section (description in text)

Устройство использовали следующим образом. Нетеплоизолированной частью холодовой контейнер (1) прикладывали к спине крысы в межлопаточной области, удерживая за рукоятку (3). Холодовое раствор (жидкий азот) при помощи медицинского шприца через канюлю (2) вводили в холодовой контейнер (1). Холодовое раствор охлаждал стенки холодовой контейнера и непосредственно нижнюю, наиболее тонкую и нетеплоизолированную часть контейнера, которая соприкасалась с кожей крысы. Температуру

в месте контакта контролировали с помощью термопары, показатели которой регистрировали на мультиметре. Варьирование параметром временного фактора позволяло моделировать стандартизированные отморожения разной степени тяжести.

Устройство для моделирования контактных отморожений позволило моделировать поверхностные контактные отморожения у лабораторных крыс – после 30-минутной экспозиции кожа в области холодового воздействия была бледного цвета, холодная на ощупь, имели место отдельные петехии. На третьи сутки в месте отморожения кожа визуально не была изменена, теплая на ощупь, отмечено лишь шелушение эпидермиса. Однако данное устройство не позволило моделировать глубокие отморожения ввиду недостаточно низкой температуры в зоне контакта и воздействия внешнего температурного режима. Кроме того, его неудобно удерживать при использовании и рука исследователя непосредственно контактирует с холодовым контейнером.

В конструкции разработанной криокамеры для создания отморожений разной степени тяжести у лабораторных животных удалось избежать воздействия внешнего температурного фактора и воспроизвести глубокое контактное отморожение в сочетании с общим переохлаждением. Однако к недостаткам данного устройства следует отнести необходимость больших объемов хладагента для поддержания постоянной низкой температуры в холодовом контейнере, а также длительное нахождение подопытного животного в наркозе (около 30 минут).

Предусмотренный в криоклиматокамере для создания отморожений у лабораторных животных компрессор обеспечивает поддержание постоянной циркуляции охлаждающего реагента, что позволяет значительно уменьшить количество хладагента в эксперименте; в криоклиматокамере посредством расположенного на верхней стенке вентилятора создается постоянный поток холодного воздуха, что максимально приближает данную модель к реальным климатическим условиям.

Разработанное устройство для моделирования отморожений разной степени тяжести не требует длительного нахождения лабораторного животного в наркозе, варьированием за короткий временной промежуток холодового воздействия позволяет моделировать стандартизированные отморожения разной глубины поражения в интересах поставленных экспериментом задач.

Заключение

Разработанные устройства для моделирования как контактных отморожений, так и в сочетании с общим переохлаждением позволяют воспроизвести холодовую травму разной степени тяжести, не сложны в изготовлении и эксплуатации, могут быть использованы исследователями для изучения актуальных вопросов криоповреждений.

Литература

- Предупреждение развития некроза при отморожениях с оледенением тканей / З. Р. Алексеев [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 8-1. – С. 35-41.
- Шаповалов, К. Г. Отморожения в практике врача анестезиолога-реаниматолога / К. Г. Шаповалов // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2019. – Т. 16, № 1. – С. 63-68. – doi: 10.21292/2078-5658-2019-16-1-63-68.
- Бондарев, Е. В. Антигипертонические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь // Вестник фармации. – 2016. – № 3. – С. 92-97.
- Способ моделирования отморожения кожных покровов в гипоксических условиях : пат. RU 2703473C1 / А. А. Темнов, В. В. Бояринцев, А. В. Трофименко, Е. В. Горина, С. А. Бирюков, Г. И. Фильков, А. В. Лисин, Д. А. Русалиева. – Оpubл. 17.10.2019.
- Fabian, C. J. A retrospective cohort study examining treatments and operative interventions for frostbite in a tertiary care hospital / C. J. Fabian, M. Taljaard, J. J. Perry // CJEM. – 2017. – Vol. 19, iss. 2. – P. 88-95. – doi: 10.1017/cem.2016.372.
- 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 сьогодні і завтра. – 2011. – № 3. – 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 Environ. Med. – 2013. – Vol. 24, iss. 2. – P. 94-104. – doi: 10.1016/j.wem.2012.11.020.
- Protective Effect of Extract of Ginkgo biloba 761 against Frostbite Injury in Rats / T. Aizawa [et al.] // Plast. Reconstr. surg. – 2019. – Vol. 143, iss. 6. – P. 1657-1664. – doi: 10.1097/PRS.0000000000005648.
- Nanostructured lipid carrier based topical gel of Ganoderma Triterpenoids for frostbite treatment / C. Y. Shen [et al.] // Chin. J. Nat. Med. – 2015. – Vol. 13, iss. 6. – P. 454-460. – doi: 10.1016/S1875-5364(15)30039-X.
- Effects of low-frequency pulsed electromagnetic fields on plateau frostbite healing in rats / M. Jiao [et al.] // Wound Repair Regen. – 2016. – Vol. 24, iss. 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.] // J. Surg. Res. – 2011. – Vol. 168, iss. 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 Environ Med. – 2016. – Vol. 27, iss. 3. – P. 355-363. – doi: 10.1016/j.wem.2016.03.004.
- Устройство для моделирования контактных отморожений у лабораторных животных : пат. ВУ 6770 / В. Д. Меламед, П. С. Бурыкин, А. В. Киркицкий. – Оpubл. 30.10.2010.
- Криокамера для создания отморожений различной степени тяжести у лабораторных животных : пат. ВУ 8257 / В. Д. Меламед, П. С. Бурыкин, А. Л. Валентюкевич. – Оpubл. 30.06.2012.
- Криоклиматокамера для создания отморожений у лабораторных животных : пат. ВУ 12001 / А. Л. Валентюкевич, К. Г. Шаповалов, В. Д. Меламед. – Оpubл. 01.04.2019.
- Устройство для моделирования отморожений различной степени тяжести : пат. ВУ 12002 / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед. – Оpubл. 01.04.2019.

References

- Alekseev RZ, Tomsk MI, Golderova AS, Potapov AF, Alekseev YR, Semenova SV. Preduprezhdenie razvitiya nekroza pri otmorozheniyah s oledeneniem tkanej [Prevention of necrosis development in case of frostbite with tissue glaciation]. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovaniy*. 2015;(8-1):35-41. (Russian).
- Shapovalov KG. Otmorozheniya v praktike vracha anesteziologa-reanimatologa [Frostbites in the practice of an anesthesiologist and emergency physician]. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii* [Messenger of Anesthesiology and Resuscitation]. 2019;16(1):63-68. doi: 10.21292/2078-5658-2019-16-1-63-68. (Russian).
- Bondarev EV, Shtrygol SJu. Antipertionicheskie i antioksidantnye svojstva glukozamina gidrohlorida i acetilsalicilovoj kisloty v uslovijah ostroj holodovoj travmy [Antihypertensive and antioxidant properties of glucosamine hydrochloride and acetylsalicylic acid in conditions of acute cold injury]. *Vestnik farmacii*. 2016;(3):92-97. (Russian).
- Temnov AA, Bojarincev VV, Trofimenko AV, Gorina EV, Birjukov SA, Filkov GI, Lisin AV, Rusalieva DA, inventors; Moscow Institute of Physics and Technology, assignee. A method of modeling frostbite of the skin in hypoxic conditions. RU patent 2703473C1. 2019 Oct 17. (Russian).
- Fabian JC, Taljaard M, Perry JJ. A retrospective cohort study examining treatments and operative interventions for frostbite in a tertiary care hospital. *CJEM*. 2017;19(2):88-95. doi: 10.1017/cem.2016.372.
- Klimenko NA, Leontyeva LV. Morfologicheskaja harakteristika dinamiki vospalitelno-reparativnogo processa posle lokalnoj holodovoj travmy v uslovijah ostroj i hronicheskoj alkogolnoj intoksikacii [Morphological characteristics of inflammatory reparative process dynamics after local cold trauma on background of acute and chronic alcoholic intoxication]. *Medycyna sogodni i zavtra*. 2011;(3):33-38. (Russian).
- Lazarenko VA, Artyushkova EB, Mishustin VN, Goryainova GN, Monovtsov IA, Kvachakhy LL, Chigunadze AL. Farmakologicheskaja korrekciya morfoloicheskikh 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 Environ Med*. 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. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(6):1657-1664. doi: 10.1097/PRS.0000000000005648.
- Shen CY, Dai L, Shen BD, Zhou X, Bai JX, Xu H, Lv QY, Han J, Yuan HL. Nanostructured lipid carrier based topical

- gel of Ganoderma Triterpenoids for frostbite treatment. *Chin J Nat Med*. 2015;13(6):454-460. doi: 10.1016/S1875-5364(15)30039-X.
11. 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 Regen*. 2016;24(6):1015-1022. doi: 10.1111/wrr.12487.
 12. 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. *J Surg Res*. 2011;168(1):155-161. doi: 10.1016/j.jss.2009.07.012.
 13. 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 Environ Med*. 2016;27(3):355-363. doi: 10.1016/j.wem.2016.03.004.
 14. Melamed VD, Burykin PS, Kirkickij AV, inventors; Grodno State Medical University, assignee. A device for simulating contact frostbite in laboratory animals. BY patent 6770. 2010 Oct 30. (Russian).
 15. Valentyukevich AL, Melamed VD, inventors; Grodno State Medical University, assignee. Cryocamera for creating frostbites of varying severity in laboratory animals. BY patent 8257. 2012 Jun 30. (Russian).
 16. Valentyukevich AL, Shapovalov KG, Melamed VD, inventors; Grodno State Medical University, assignee. Cryoclimaticcamera for creating frostbites in laboratory animals. BY patent 12001. 2019 Apr 01. (Russian).
 17. 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).

EXPERIMENTAL MODELING OF FROSTBITES OF VARYING SEVERITY IN LABORATORY ANIMALS

Part 1. Development and technical characteristics of devices

¹Valentyukevich A. L., ¹Melamed V. D., ²Ostrovsky A. A.,

¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

²Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

Background. In modern medicine, the problem of treating frostbite remains relevant and requires further study. It raised the need for a reliable experimental model of cold injury.

Purpose of the study. Creation of devices that allow simulating both contact frostbites and their combination with general hypothermia in laboratory animals.

Material and methods. In laboratory rats under ether anesthesia, frostbite simulation was performed using different types of devices. The depth and prevalence of cold injury were studied.

Results. The existing methods of modeling frostbites are analyzed. A device has been developed for reproducing cold tissue damage in the interests of the tasks set by the experiment.

Conclusions. The developed devices for simulating frostbites can be used by researchers to study topical issues of cold injury.

Keywords: devices, frostbites, cold injury, experiment, rats.

For citation: Valentyukevich AL, Melamed VD, Ostrovsky AA. Experimental modeling of frostbites of varying severity in laboratory animals. Part 1. *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>.

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, ORCID: 0000-0002-8994-5179.

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

Островский Александр Александрович / Ostrovsky Aliaxander, e-mail: astrowski@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8647-3922.

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 28.09.2020

Принята к публикации / Accepted for publication: 17.11.2020