

О. А. Янковський¹, Д. О. Янковська¹, Г. В. Полікарпова²

¹ Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків, Україна

² Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

АВТОМАТИЗОВАНА СИСТЕМА ДЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ТЕРМІЧНИХ ОПІКІВ ШКІРИ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Анотація. У статті розглянута автоматична система для моделювання термічних опіків шкіри у експериментальних тварин. Запропонована система складається з нагрівального елемента з підключеним до нього датчиком температури, комп'ютеру (або ноутбук), до якого через інтерфейс USB підключається зовнішній виконавчий пристрій, реалізований на мікроконтролері, який регулює температуру нагрівального елемента за допомогою широтно-імпульсної модуляції. Програмне забезпечення дозволяє задавати необхідні параметри термічного впливу (температуру, час, кратність) та передбачає можливість його розширення використанням автоматичного підбору температури та часу впливу в залежності від виду експериментальної тварини, ділянки тіла, що підлягає впливу та бажаного ступеня опіку. Наявність комп'ютера дає змогу вносити та зберігати дані щодо умов експерименту, тварин та результати досліджень з автоматичним формування карток експериментальних тварин та можливістю переносити дані до інших програм, наприклад для статистичної обробки результатів. Система може бути застосована для досліджень в області біології та медицини, зокрема у доклінічних випробуваннях препаратів.

Ключові слова: опік, система, моделювання, ушкодження, експериментальна тварина, мікроконтролер.

Вступ

Опік - це травма шкіри або інших органічних тканин, що спричиняється переважно високими температурами, а також випромінюванням, радіоактивністю, електрокою, тертям або контактом з хімічними речовинами. Даний вид травм є глобальною проблемою в галузі охорони здоров'я – за оцінками ВООЗ, у світі щорічно трапляється 180 000 випадків смерті від опіків. Опікова травма характеризується важким перебігом, високою частотою розвитку ускладнень та великим ризиком подальшої інвалідації пацієнта. Статистичні дані свідчать про те, що саме термічний вид опіку є найбільш широко розповсюдженим [1]. У зв'язку з зазначеним вище розробка нових методів експериментального моделювання термічних опікових ушкоджень шкіри піддослідних тварин з метою подальшого вивчення особливостей репарації тканин та впровадження ефективних способів терапії є дуже актуальною проблемою.

Експериментальні дослідження динаміки розвитку опіків, процесу загоєння рани, доклінічні випробування ефективності нових лікарських засобів не можуть бути проведені на клітинних культурах, адже опікове ушкодження викликає метаболічні та імунологічні зміни у цілому організмі. Крім того, небезпечним ускладненням глибоких опіків або опіків великої площі є опікова хвороба, що розвивається внаслідок руйнування тканин та викликає значну летальність, що обумовлена порушенням центральної гемодинаміки і мікроциркуляторних розладів внаслідок первинної гіповолемії, стрес-реакції, масового вивільнення цитокінів.

А це, в свою чергу, призводить до зменшення газотранспортної функції крові, падіння онкотичного тиску, метаболічному ацидозу – основних факторів розвитку поліорганної недостатності і виникнення раннього сепсису [2]. Терапія опікової хвороби являє собою гостру медичну проблему та потребує експериментальних досліджень.

Серед наявних методів експериментального моделювання термічних опіків існує спосіб, що вимагає занурення спини тварини у воду, нагріту до температури 96°C протягом певного часу за допомогою пристрою, який складається з коліски з отвором та водяної бані [3]. Проте, даний метод не дає змоги змінювати площу та локалізацію опіку та викликає «вологий» некроз, що характеризується більш важким перебігом. Інший метод включає виклик опіку шкіри контактним способом за допомогою пробірки або спеціального пристрою з нагрітою до 100°C водою [4, 5]. Існують методи, що передбачають моделювання термічного опіка за допомогою повітря, нагрітого до 500°C, що генерується електрофеном [6] та з використанням світловода лазера [7] або за допомогою інфрачервоної лазерної станції [8]. Всі ці методи дозволяють викликати термічні опіки різного ступеня за допомогою зміни часу впливу термічного агента. Недоліками способів, описаних вище, є неможливість змінювати площу опікового ушкодження та недостатньо способів регуляції режиму температурного впливу на експериментальну тварину, а також відсутність можливості автоматичного контролю заданих параметрів. Це унеможливує, наприклад, моделювання опіків різної площі в рамках одного експерименту. Крім того, методи моделювання термічних опіків, що передбачають безконтактний температурний вплив на експериментальну тварину, зокрема за допомогою нагрітого повітря або інфрачервоної лазерної станції, не дають змогу задати потрібну площу рани в см², а лише дозволяють отримати опікове ушкодження, що вимірюється у відносних величинах – відсотках від загальної площі шкіри, - та потребують додаткові розрахунки загальної площі поверхні шкіри за вагою піддослідної тварини.

Завдання експериментів – як візуальна оцінка динаміки розвитку опікового процесу з використанням індексів загоєння рани, так і дослідження ряду показників що дають змогу зробити висновки щодо

розвитку ендогенної інтоксикації, динаміки прозапальних та протизапальних процесів, як у крові, так і в ураженій ділянці шкіри експериментальних тварин при термічних опіках. Дослідження вищезазначених параметрів дають змогу зробити висновки щодо ефективності нових лікарських засобів, що використовуються для терапії опіків різної площі та ступеню. Також актуальним є виділення значущих біохімічних, імунологічних, гормональних показників при термічних опіках шкіри для оцінки тяжкості опікового процесу, ризику розвитку опікової хвороби, прогнозу можливості самостійної репарації в уражених ділянках, ризику виникнення можливих ускладнень.

Мета статті – опис автоматизованої системи для моделювання термічного опіка шкіри у експериментальних тварин контактним способом, яка була розроблена в рамках договору про співробітництво між кафедрою біологічної хімії Харківського національного медичного університету та кафедрою ЕОМ Харківського національного університету радіоелектроніки, та деякі результати її застосування.

Практичні результати

Для моделювання термічного опіка шкіри експериментальних тварин контактним способом запропонована комп'ютерна система регулювання температури. Дана система призначена для регулювання температури нагрівального елемента для проведення медико-біологічних досліджень щодо реакції тварин на теплові подразники.

Структура системи показана на рис. 1.

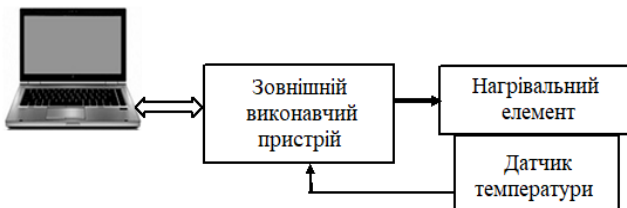


Рис. 1. Структура системи регулювання температури

До складу системи входять нагрівальний елемент з підключеним до нього датчиком температури, комп'ютер (або ноутбук), до якого через інтерфейс USB підключається зовнішній виконавчий пристрій, реалізований на мікроконтролері, який регулює температуру нагрівального елемента за допомогою широтно-імпульсної модуляції (ШІМ). Як нагрівальний елемент використовуються латунні патронні нагрівачі діаметром від 3 до 50 мм (площа контакту від 7 до 1900 мм²) потужністю 50 Вт/см², закріплені на термоізоляційному утримувачі.

Працює система в такий спосіб.

За допомогою програмного забезпечення даної системи перед початком вимірювань формується інформація про об'єкт дослідження (вид тварини, стать, вік, порядковий номер), а також дату, час дослідження. Також вказується необхідна температура нагрівального елемента (в діапазоні від 10°C до 500°C з кроком в 1°C), час дії (від 0,5 до 60 секунд з дискретністю 0,5 с), режим впливу - одиночний або багаторазовий.

По команді «СТАРТ» включається нагрівальний елемент, інформація від датчика температури через зовнішній виконавчий пристрій надходить у комп'ютер, і коли температура нагрівального елемента стабілізується на заданому значенні, на екрані монітора з'являється команда про дозвіл впливу нагрівальних елементів на об'єкт. Дослідник після дотику до об'єкта дослідження, натискає кнопку на утримувачі нагрівального елемента, і комп'ютер починає відлік часу, зазначеного на початку експерименту, після закінчення якого лунає звуковий сигнал. Після завершення звукового сигналу в залежності від вибраного режиму роботи нагрівальний елемент або вимикається, або готується для наступного вимірювання.

Інформація щодо протоколів проведених експериментів по кожній тварині зберігається у базі даних, яка входить до програмного забезпечення системи, та дає можливість вносити туди результати вимірювань клінічних, імунологічних, біохімічних гістологічних та ін. показників та одиниці їх виміру з автоматичним формуванням картки експериментальної тварини.



Рис. 2. Термічний опік шкіри задньої поверхні стегна морської свинки площею 1 см² ІІв ступеню

Приклад експерименту. Завдання: необхідно викликати термічний опік шкіри задньої поверхні стегна морської свинки площею 1 см² ІІв ступеню. Для цього голимо відповідну ділянку шкіри. Тварину наркотизуємо за допомогою препарату «Пропофол» у дозі 2,5 мг/кг інтраперитонеально. Вибираємо патронний нагрівач відповідного діаметру. Вносимо в комп'ютер дату, час експерименту, вид тварини, вік, стать, вагу, порядковий номер, площу та ступінь опіку. З даних літератури відомо, що для спричинення опіку ІІв ступеню шкіри морської свинки необхідна температура нагрівального елемента 230°C, час експозиції – 3 секунди [8]. На комп'ютері виставляємо температуру 230°C, час впливу – 3 секунди, режим – одиночний. Наркотизовану тварину фіксуємо та наносимо опік за допомогою нагрівального елемента контактним способом. Результати застосування системи представлені на рис. 2.

В результаті через добу після нанесення опіку у тварини відмічається сухий «коагуляційний» некроз ушкодженої ділянки шкіри діаметром 1 см² та ознаки запалення: біль, почервоніння, набряк. На другу

добу некротизовані тканини відторгаються та формується дефект прощою 1 см² та глибиною, що відповідає ІІв ступеню опіка. На третю добу відмічали-

ся виражені ознаки запального процесу, проте площа дефекту зменшилася на 6 – 10 %. Жодних препаратів для лікування дефекту не застосовували.

Дата: 19.12.2021						
Номер тварини Т-1						
Вид: Мурчак Вага: 590 г Вік: 4 міс. Стать: самець						
Умови експерименту: Т- 230°C, час експозиції – 3 секунди, режим – одиночний						
Дата евтаназії: 22.12.2021						
Цільна кров						
ШОЕ, мм/год	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Еозинофіли, %	ПАН, %	СЯН, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
6,83	9,51	3,2	6,67	18,4	3,24	63,77
Сироватка крові			Цільна кров			
СРБ, мг/л	Гаптоглобін, мг/л	Сіркомуюїди, мг/л	ЦІК с.р., у.о.	ЦІК в.р., у.о.	ФЧН	ФІН
9,8	1,25	0,56	0,122	0,092	1,68	42,53
Препарати ураженої ділянки шкіри			Сироватка крові			
Загальний Колаген, у.о.	Колаген, 1 тип, у.о.	Колаген, 3 тип, у.о.	Колаген, 5 тип, у.о.	Колаген, 6 тип, у.о.	АКТГ, пкг/л	Кортикостерон, нМ/л
3,07	2,07	0,74	0,09	0,23	7,16	7,93
Сироватка крові						
ІЛ-1β, пкг/мл	ІЛ-2, пкг/мл	TNF-α, пкг/мл	ІЛ-4, пкг/мл	ІЛ-10, пкг/мл		
15,82	16,39	5,35	18,63	1,03		
Гомогенат шкіри						
ІЛ-1β, пкг/г білка	ІЛ-2, пкг/г білка	TNF-α, пкг/г білка	ІЛ-4, пкг/г білка	ІЛ-10, пкг/г білка		
115,26	6,95	62,75	1,16	0,94		
Сироватка крові		Гемолізат				
ТБК-АП, мкМ/л	ДК, мкМ/л	Каталаза мкКатал/г Нь	СОД, мг/г Нь			
5,86	64,67	6,17	43,86			

Рис. 3. Автоматично сформована картка експериментальної тварини

Морську свинку декапітували на третю добу експерименту, дату евтаназії внесли до системи. Були проведені дослідження показників запалення шляхом визначення лейкоцитарної формули, швидкості осідання еритроцитів, фагоцитарної активності нейтрофілів за сумою фагоцитарного числа та фагоцитарної активності нейтрофілів у цільній крові, рівня сіркоомуюїдів, гаптоглобіну, С-реактивного білка, цирку-

люючих імунних комплексів великих та середніх розмірів, кортикостерону, адренкортикотропного гормону в сироватці крові, прозапальних інтерлейкінів - 1β, 2, фактору некрозу пухлин-α, протизапальних інтерлейкінів 4, 10 у сироватці крові та гомогенатах ураженої ділянки шкіри. Для оцінки динаміки відношення прооксидантних та антиоксидантних процесів визначали концентрацію ТБК-активних продуктів та

дієвних кон'югатів у сироватці крові та гомогенатах ураженої ділянки шкіри, активностей каталази та супероксиддисмутази у гемолізатах крові та гомогенатах ураженої ділянки шкіри. Також було проведено гістологічне дослідження препаратів ураженої ділянки шкіри, вимірювання рівня загального колагену та визначення його першого, третього, п'ятого та шостого типів для оцінки тяжкості дефекту та динаміки репаративних процесів. Отримані результати, одиниці виміру та матеріал були внесені до бази даних, яка автоматично сформувала картку експериментальної тварини. Приклад такої картки представлений на рис. 3. У випадку, якщо експериментальній тварині проводилося лікування за допомогою протиопікових препаратів, в систему вноситься інформація щодо назви препарату дози, форми та кратності його застосування. Також до бази даних можуть бути внесені результати досліджень тварин контрольної групи, які не підлягали впливу жодних ушкоджуючих факторів та не отримували лікування жодними препаратами.

Картки піддослідних тварин та протоколи експерименту зберігаються у пам'яті комп'ютера. Це дозволяє, наприклад, скопіювати та завантажити дані у інші програми, зокрема, для статистичної обробки отриманих результатів. Таким чином, запропонована система може бути застосована не тільки

для моделювання опіків шкіри експериментальних тварин, але і для збереження та обробки даних, які будуть отримані в результаті експерименту.

Висновки

Запропонована система дає змогу викликати термічні опіки будь-якої ділянки шкіри експериментальних тварин. Комп'ютерне управління дозволяє застосовувати автоматичну регуляцію температури та часу впливу, що необхідно для моделювання опіку необхідної глибини, а наявність нагрівальних елементів різного діаметру дозволяє наносити опікові рани різної площі. Програмне забезпечення можна розширити можливістю автоматичного підбору температури та часу впливу в залежності від виду експериментальної тварини, ділянки тіла, що підлягає впливу та бажаного ступеня опіку. Наявність комп'ютера дає змогу вносити та зберігати дані щодо умов експерименту, тварин та результати досліджень з автоматичним формування карток експериментальних тварин та можливістю переносити дані до інших програм, наприклад для статистичної обробки результатів.

Система може бути застосована для досліджень в області біології та медицини, зокрема у доклінічних випробуваннях препаратів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Информационный бюллетень ВОЗ №365, апрель 2014 г. [Електронний ресурс]. – 2014. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/ru/>.
2. Коваленко О. Інфузійна терапія в гострому періоді опікової хвороби [Електронний ресурс] / О. Коваленко, Г. Козинець – Режим доступу до ресурсу: <https://www.uf.ua/ua/hirurg/infuzijna-terapiya-v-gostromu-periodi-opikovoji-hvoroby/>.
3. Davenport L. A new model for standardising and treating thermal injury in the rat / L. Davenport, G. Dobson, H. Letson. // *MethodsX*. – 2019. – №6. – P. 2021–2027.
4. Влияние препарата ионизированного серебра на репаративную регенерацию кожи и подлежащих тканей при моделировании термических и химических ожогов у крыс / Н. С. Пономарь, Ю. С. Макляков, Д. П. Хлопонин, А. О. Ревякин. // *Биомедицина*. – 2012. – №1. – С. 143–148.
5. Разработка устройства для воспроизведения термического ожога на лабораторных животных [Електронний ресурс] / [О. О. Новиков, Е. А. Абизов та ін.] // *Актуальные проблемы медицины*. – 2012. – Режим доступу до ресурсу: <https://cyberleninka.ru/article/n/razrabotka-ustroystva-dlya-vozproizvedeniya-termicheskogo-ozhoga-na-laboratornyh-zhivotnyh>.
6. Патент РФ 2210118. Способ моделирования ожоговой травмы в эксперименте у животных / Моновцов И. А., Лазаренко В. А., Блинков Ю. Ю., Лазарев Е. В.; 08.10.01.
7. Патент РФ 2472232. Способ моделирования термической ожоговой раны кожи у лабораторных животных / Колсанов А. В., Алипов В. В., Лебедев М. С., Добрейкин Е. А., Лимарева Л. В.; 24.03.11, Бюл. №1.
8. Пахомова А. Е. Новый способ экспериментального моделирования термических ожогов кожи у лабораторных животных, отвечающий принципам good laboratory practice (надлежащей лабораторной практики) / А. Е. Пахомова, Ю. В. Пахомова, Е. Е. Пахомова. // *Journal of Siberian Medical Sciences*. – 2015. – №3. – С. 97.
9. Парамонов Б. А. Методы моделирования ожогов кожи при разработке препаратов для местного лечения / Б. А. Парамонов, В. Ю. Чеботарев // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2002. Т. 134. № 11. С. 593–597.

Received (Надійшла) 14.12.2021

Accepted for publication (Прийнята до друку) 09.03.2022

Automated system for thermal skin burns modeling in experimental animals

O. Yankovsky, D. Yankovska, H. Polikarpova

Abstract. The article considers an automatic system for modeling thermal skin burns in experimental animals. The proposed system consists of a heating element with a temperature sensor connected to it, a computer (or laptop) to which an external actuator implemented on a microcontroller is connected via USB, which regulates the temperature of the heating element by pulse-width modulation. The software allows you to set the required parameters of thermal exposure (temperature, time, multiplicity) and provides the ability to expand it using automatic selection of temperature and exposure time depending on the species of experimental animal, the affected area and the desired degree of burns. The availability of a computer allows to enter and store data on the conditions of the experiment, animals and research results with automatic generation of cards of experimental animals and the ability to transfer data to other programs, such as statistical processing of results. The system can be used for research in biology and medicine, in particular in preclinical trials of drugs.

Keywords: burn, system, modeling, damage, experimental animal, microcontroller.