ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА С ПОМОЩЬЮ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РАСТВОРА ЩЕЛОЧИ

И.Ю. Карпова, П.В. Перетягин, Н.Ю. Орлинская,
Т.Е. Потеемина, В.В. Паршиков

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород

Резюме. *Цель и задачи исследования:* создание экспериментальной модели химического ожога пищевода щелочью для изучения патологической трансформации тканей верхних отделов желудочно-кишечного тракта. *Материалы и методы.* На базе отделения экспериментальной медицины с виварием Приволжского исследовательского медицинского университета исследование химического ожога пищевода проводили на 15 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Ожог моделировали путем экспозиции едкого натра (NaOH) с концентрацией 20 %, 15 %, 10 % и 5 % в объеме 1 мл. В рамках морфологического исследования экспериментальный материал фиксировался в 10 % формалине. После фиксации препараты отправляли в стандартную гистологическую проводку на аппарате «Excelsior ES» (Thermo Scientific). Заливка в парафиновые блоки с использованием заливочной станции «HistoStar» (Thermo Scientific), окраска гематоксилином и эозином. Для морфометрической обработки и создания видеоархива полученного материала использовался микроскоп Leica 2500, объектив $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, окуляр $\times 10$ на базе отдела морфологии НИИТО ПИМУ. *Результаты.* Затравка 20 % раствором щелочи для животных оказалась несовместимой с жизнью, так как через сутки после введения вещества три крысы погибли, две находились в агональном состоянии. При морфологическом исследовании обнаружен тотальный некроз (100 %) эпителиальной выстилки до мышечного слоя и частично в мышечном слое. При ожоге 15 % раствором NaOH самцы пребывали в очень тяжелом состоянии, из пяти затравленных в двух случаях отмечен летальный исход на первые сутки. Гистологическое исследование констатировало массивный некроз (70 %) эпителиальной выстилки. Влияние 10 % щелочи на общее состояние животных не демонстрировало выраженную тяжесть травмы. На 15 % площади эпителиальной выстилки диагностирован некроз. Ожог 5 % раствором едкого натра не спровоцировал тяжесть, несовместимую с жизнью. При данном состоянии выявили очаговые некрозы, занимающие около 5 % площади органа. *Заключение.* Затравки 10 % и 5 % растворами каустика являются актуальными для дальнейшего экспериментального исследования, так как дают возможность апробировать разные методы диагностики, лечения и профилактики рубцевания при различной глубине и морфологических особенностях повреждения.

Ключевые слова: экспериментальная модель, крысы, химический ожог, раствор щелочи, пищевод, желудок.

Для цитирования: Карпова И.Ю., Перетягин П.В., Орлинская Н.Ю., Потеемина Т.Е., Паршиков В.В. Экспериментальное моделирование химического ожога пищевода с помощью разных концентраций раствора щелочи. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье.* 2021;4(52):36-44. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2021.4.MORPH.1>

EXPERIMENTAL MODELING OF CHEMICAL BURNING OF THE ESOPHAGUS USING DIFFERENT CONCENTRATIONS OF ALKALI SOLUTION

I.Yu. Karpova, P.V. Peretyagin, N.Yu. Orlinskaya,
T.E. Potemina, V.V. Parshikov

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod

Abstract. *The purpose and objectives of the study:* is to create an experimental model of a chemical burn of the esophagus with alkali to study the pathological transformation of the tissues of the upper gastrointestinal tract. *Materials and methods.* On the basis of the Department of Experimental Medicine with a vivarium of the Privolzhsky Research Medical University, the study of a chemical burn of the esophagus was carried out on 15 sexually mature male Wistar rats. The burn was simulated by exposure to caustic soda (NaOH) with a concentration of 20 %, 15 %, 10 % and 5 % in a volume of 1 ml. As part of the morphological study, the experimental material was fixed in 10 % formalin. After fixation, the preparations were sent to a standard histological wiring using an Excelsior ES apparatus (Thermo Scientific). Pouring into paraffin blocks using the "HistoStar" filling station (Thermo Scientific), staining with hematoxylin and eosin. For morphometric processing and creation of a video archive of the obtained material, a Leica 2500 microscope, $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, objective, $\times 10$ eyepiece based on the morphology department of NIITO PIMU was used. *Results.* Seeding with a 20 % alkali solution for animals turned out to be incompatible with life, since a day after the injection of the substance, 3 rats died, 2 were in an agonal state. Morphological examination revealed total necrosis (100 %) of the epithelial lining up to the muscle layer and partially in the muscle layer. When burned with a 15 % NaOH solution, the males were in a very serious condition, out of 5 inoculated in 2 cases, a lethal outcome was noted on the 1st day. Histological examination revealed massive necrosis (70 %) of the epithelial lining. The effect of 10 % alkali on the general condition of the animals did not show a pronounced severity of injury. Necrosis was diagnosed on 15 % of the area of the epithelial lining. A burn with 5 % sodium hydroxide solution did not provoke a severity incompatible with life. In this condition, focal necrosis was revealed, occupying about 5 % of the organ area. *Conclusion.* Seeds with 10 % and 5 % caustic solutions are relevant for further experimental research, since they make it possible to test different methods of diagnostics, treatment and prevention of scarring at different depths and morphological features of damage.

Key words: experimental model, rats, chemical burn, alkali solution, esophagus, stomach.

Cite as: Karpova I.Yu., Peretyagin P.V., Orlinskaya N.Yu., Potemina T.E., Parshikov V.V. Experimental modeling of chemical burning of the esophagus using different concentrations of alkali solution. *Bulletin of the Medical Institute REAVIZ. Rehabilitation, Doctor and Health.* 2021;4(52):36-44. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2021.4.MORPH.1>

Цель и задачи исследования – создание экспериментальной модели химического ожога пищевода щелочью для изучения патологической трансформации тканей верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Введение

Химические ожоги верхнего отдела желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются одной из самых частых причин госпитализации детей в стационар. Данный вид химической травмы в России занимает 3-е место и составляет от 8,5 до 42,5 % [1–4]. Ре-

зультатами ожогов являются стенозы, гастроэзофагеальный рефлюкс (ГЭР), приводящие к длительному комплексному лечению в течение 2–3 лет [3–4]. По данным литературы отмечен высокий риск развития злокачественных новообразований пищевода и желудка как следствие послеожоговой травмы [5].

Поэтому поиск методов лечения этой патологии требует создания экспериментальной модели ожога пищевода, позволяющей разработать патогенетически обоснованное лечение в зависимости от глубины и стадии поражения.

Экспериментальные модели химического ожога пищевода (ХОП) щелочами мало изучены и не имеют четкого морфологического подтверждения. На современном этапе одной из основных проблем при выполнении эксперимента является сложность дозировки химического агента и, как следствие, большой процент гибели животных на этапе нанесения травмы [6–8].

Щелочные растворы, применяемые в качестве прижигающих жидкостей, в основном, являются сильными электролитами. Для этих растворов характерен узкий интервал концентраций, при которых возможно осуществить эксперимент с необходимым по глубине поражением стенки пищевода и минимальной гибелью животных на ранней стадии [9, 10].

Наряду с огромным опытом в лечении химических ожогов у детей, остается неизученной гистоархитектоника стенки пищевода и желудка при ожогах щелочью, зачастую лечение не имеет четкой патогенетической обоснованности. Не разработан способ прогнозирования послеожоговой малигнизации в зависимости от возраста, в котором была получена травма. Особенности детского возраста диктуют необходимость дальнейшего изучения способов профилактики рубцов пищевода, которые бы отличались высокой эффективностью и малой травматичностью [11–13].

Из-за различий в патогенезе ожогов пищевода щелочными растворами и растворами кислот до настоящего времени не создана оптимальная модель локального ожога пищевода, позволяющая снизить гибель животных на ранних этапах эксперимента. Также отсутствуют данные о процессах репарации стенки пищевода после ожогов щелочами и кислотами на основании современных методов морфологических и биохимических исследований.

Материалы и методы

На базе отделения экспериментальной медицины с виварием Приволжского исследовательского медицинского университета

исследование химического ожога пищевода проводили на 15 половозрелых крысах-самцах линии Wistar весом 150–200 г, полученных из филиала «Андреевка» Федерального Государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий».

Всех животных содержали в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде.

Условия работы соответствовали принципам биологической этики, требованиям «Международной Хельсинской конвенции о гуманном отношении к животным» (1972), правилам Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ET/S 129 (Страсбург, 18 марта 1986) и приказу Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Протокол заседания Комитета по Этике ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России № 7 от 07.04.2021 г.

Ожог моделировали путем экспозиции едкого натра (NaOH) с концентрацией 20 %, 15 %, 10 % и 5 % в объеме 1 мл. Для этого под общей анестезией (внутримышечно раствор Золетила 100, (60 мг/кг) в сочетании с раствором Ксила, (6 мг/кг)) расширяли ротовую полость крысы, вводили зонд диаметром 1,3 мм, имеющий 6 боковых отверстий диаметром 1 мм около слепо заканчивающегося конца. Длина зонда, введенного в пищевод, составляла 8 см., что соответствует уровню нижней трети пищевода крысы (рис. 1).

В ходе эксперимента через 24–72 часа был произведен забор органокомплекса – пищевод-желудок. Экспериментальный материал фиксировался в 10 % формалине. После фиксации препараты отправляли в стандартную гистологическую проводку на аппарате «Excelsior ES» (Thermo Scientific). Заливка в парафиновые блоки с использованием заливочной станции «HistoStar» (Thermo Scientific), окраска гематоксилином и эозином. Для морфометрической обра-

ботки и создания видеоархива полученного материала использовался микроскоп Leica 2500, объектив $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, окуляр $\times 10$ на базе отдела морфологии НИИТО ПИМУ.

Результаты и обсуждения

Щелочные растворы, используемые в качестве прижигающих жидкостей, являются сильными электролитами. Тяжелая химическая травма сопровождается изменением кислородного баланса организма. В результате чего нарушается как транспорт, так и утилизация кислорода. Данные изменения клинически проявляются развитием тканевой гипоксии.

В отличие от кислот, щелочи воздействуют гидроксильными ионами (OH^-), которые при взаимодействии с тканевыми белками образуют хорошо растворимые в воде альбуминаты, вследствие чего щелочи способны глубоко проникать в ткани, вызывая их резкую гидратацию и набухание (колликвационный некроз). Данная группа веществ вызывает омыление тканей с зоной некроза без образования струпа. Результатом ожога щелочью является глубокое поражение стенки органа, что способствует более частому, чем при поражении кислотой, развитию внеорганных осложнений. Прием щелочей происходит значи-

тельно реже, они приводят к наиболее тяжелым по глубине и протяженности ожогам пищевода. Следствиями химического поражения пищевода являются перфорации органа с более высокой частотой летальных исходов.

Затравка 20 % раствором щелочи для животных оказалась несовместимой с жизнью, так как через сутки после введения вещества три крысы погибли, две находились в агональном состоянии. На вскрытии и аутопсии обращал на себя внимание резкий зловонный запах. Отмечены распространенные некрозы стенки пищевода, пенетрирующие язвы желудка в печень, выраженный отек тканей тонкой кишки с кровоизлияниями в органах брюшной полости (рис. 2, 3).

При ожоге 15 % раствором NaOH самцы пребывали в очень тяжелом состоянии, из пяти затравленных в двух случаях отмечен летальный исход на первые сутки. Вскрытие выявило грубые инфильтративные изменения в верхних отделах ЖКТ с зонами ишемии в дне и пилорическом отделе желудка. Макроскопически были констатированы множественные геморрагии, локусы отека и воспаления во всех внутренних органах грудной и абдоминальной полостей, что подтверждало прогрессирование полиорганной недостаточности.

Рис. 1. Проведение затравки наркотизированных животных

Fig. 1. Carrying out the inoculation of anesthetized animals

Рис. 2. Пенетрирующая язва желудка в печень, тотальная ишемия желудка

Fig. 2. Penetrating stomach ulcer into the liver, total ischemia of the stomach

Влияние 10 % щелочи на общее состояние животных не демонстрировало выраженную тяжесть травмы. Однако воздействие ожога вызывало у самцов вялость, отсутствие интереса к пище в течение первых суток. В данной группе летальных исходов не было.

Ожог 5 % раствором едкого натра не спровоцировал тяжесть, несовместимую с жизнью. Животные вели себя активно, передвигались по клетке. Через 2 часа после затравки начинали пробовать корм и воду.

В брюшной полости наблюдали инфильтративные изменения с участками ишемии. Стенки кишечника оставались интактными.

Морфологическое исследование образцов взятых тканей показало, что при ожоге пищевода 20 % раствором NaOH обнаружен тотальный некроз (100 %) эпителиальной выстилки до мышечного слоя и частично в мышечном слое, выраженная воспалительная инфильтрация, кровоизлияния и полнокровие сосудов. В просвете органа некротические массы (рис. 4).

Рис. 3. Зона ишемии в желудке, граничащая с некрозом

Fig. 3. Zone of ischemia in the stomach, bordering on necrosis

Ожоговая травма 15 % раствором NaOH привела к массивному некрозу (70 %) эпителиальной выстилки, что сопровождалось выраженной воспалительной инфильтрацией, кровоизлияниями и полнокровием сосудов (рис. 5).

При воздействии 10 % раствором каустика наблюдали умеренно выраженный некроз эпителиальной выстилки, выраженное расплавление ороговевающего слоя, умеренная воспалительная инфильтрация. Площадь некроза составляла 15 % (рис. 6).

При моделировании ожога пищевода 5 % NaOH обнаружены очаговые некрозы, занимающие около 5 % площади, и мелкие кровоизлияния эпителия, полнокровие сосудов мышечного слоя. Воспалительная инфильтрация и нарушения кровообращения в окружающих тканях отсутствовали (рис. 7).

Площадь некроза и изменения сосудисто-воспалительного характера рассчитывали, как среднее значение в 10 полях зрения на увеличении X400 (табл. 1).

Рис. 4. Окраска гематоксилином и эозином. ×100 Поперечный срез пищевода. Тотальный некроз эпителия до мышечного слоя и частично в мышечном слое, выраженная воспалительная инфильтрация, кровоизлияния и полнокровие сосудов, некротические массы в просвете

Fig. 4. Staining with hematoxylin and eosin. ×100 Cross section of the esophagus. Total necrosis of the epithelium to the muscle layer and partially in the muscle layer, pronounced inflammatory infiltration, hemorrhage and vascular congestion, necrotic masses in the lumen

Рис. 5. Окраска гематоксилином и эозином. ×100 Поперечный срез пищевода. Массивный некроз эпителия, выраженная воспалительная инфильтрация, кровоизлияния и полнокровие сосудов

Fig. 5. Staining with hematoxylin and eosin. ×100 Cross section of the esophagus. Massive epithelial necrosis, severe inflammatory infiltration, hemorrhage and vascular congestion

Рис. 6. Окраска гематоксилином и эозином. ×100 Поперечный срез пищевода. Умеренный некроз эпителиальной выстилки, расплавление рогового слоя, признаки воспалительной инфильтрации

Fig. 6. Staining with hematoxylin and eosin. ×100 Cross section of the esophagus. Moderate necrosis of the epithelial lining, melting of the stratum corneum, signs of inflammatory infiltration

Рис. 7. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$ Поперечный срез пищевода. Очаговые некрозы и мелкие кровоизлияния эпителия, полнокровие сосудов мышечного слоя

Fig. 7. Staining with hematoxylin and eosin. $\times 100$ Cross section of the esophagus. Focal necrosis and small hemorrhages of the epithelium, plethora of the vessels of the muscle layer

Таблица 1. Морфометрическое исследование состояния эпителия пищевода при различных концентрациях раствора NaOH

Table 1. Morphometric study of the state of the esophageal epithelium at various concentrations of NaOH solution

Концентрация раствора NaOH	Площадь некроза	Воспалительная инфильтрация	Нарушения кровообращения
5 %	5 %	-	+
10 %	15 %	+	+
15 %	70 %	+++	++
20 %	100 %	++	++

Выводы

Таким образом, затравка 20 % раствором щелочи в 100 % случаев является несовместимой с жизнью, что исключает дальнейшую разработку новых методов диагностики, лечения и профилактики патологии. При воздействии 15 % раствором каустика на организм животных приводит к 50 % летальности. Вскрытие выживших самцов на вторые сутки выявило грубую трансформацию не только в желудочно-

кишечном тракте, но и в других паренхиматозных органах грудной и абдоминальной полостей, подтверждая системность поражения. Затравки 10 % и 5 % растворами NaOH являются актуальными для дальнейшего экспериментального исследования, так как дают возможность апробировать разные методы диагностики, лечения и профилактики рубцевания при различной глубине и морфологических особенностях повреждения.

Литература/References

- 1 Balderas A.B., Aceves M.R., Ramirez P.C., Rodriguez E.G., Marin J.A.B. Endoscopic findings of the digestive tract secondary to caustic ingestion in children seen at the Emergency Department. *Archivos argentinos de pediatria*. 2018;116(6):409-414. <https://doi.org/10.5546/aap.2018.eng.409>
- 2 Meena B.L., Narayan K.S., Goyal G., Sultania S., Nijhawan S. Corrosive Injuries of the Upper Gastrointestinal Tract. *Journal of digestive endoscopy*. 2017;8(4):165-169. https://doi.org/10.4103/jde.JDE_24_16.
- 3 Razumovskij A.YU., Geras'kin A.V., Obydenнова R.V., Kulikova N.V. Lechenie himicheskikh ozhogov pi-shchevoda u detej. *Hirurgiya*. 2012;1:43-47. (In Russ).

- 4 Bocharnikov E.S., Ponomarev V.I., Shevchuk V.I., Romanchuk O.V. Okazanie medicinskoj pomoshchi de-tyam s himicheskimi ozhogami pishchevoda i ih posledstviyami. *Rossijskij vestnik detskoj hirurgii, anesteziologii i reanimatologii*. 2011;1:48-50. (In Russ).
- 5 Hatanbaatar G., Bajkov V.V. Etiologiya i faktory riska raka pishchevoda. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2011;7:8-11. (In Russ).
- 6 Muacevic A., Adler J. R. Clinico-epidemiological Characteristics of Corrosive Ingestion: A Cross-sectional Study at a Tertiary Care Hospital of Multan, South-Punjab Pakistan. *Cureus*. 2018 May;10(5):e2704. <https://doi.org/10.7759/cureus.2704>
- 7 Marcuz de Souza C.A., Bucarechi F., Rodrigues Fernandes L.C., Borrascas Fernandes C. et al. Toxic exposures in children involving legally and illegally commercialized household sanitizers. *Rev Paul Pediatr*. 2017 Jan-Mar;35(1):11-17. <https://doi.org/10.1590/1984-0462;2017;35;1;00010>
- 8 Kucuk G., Gollu G., Ates U., Cakmak Z.A. et al. Evaluation of esophageal injuries secondary to ingestion of unlabeled corrosive substances: pediatric case series. *Archivos argentinos de pediatria*. 2017;115(2):E85-E88. <https://doi.org/10.5546/aap.2017.eng.e85>
- 9 Ku çu K.A., Topaloglu N, Yildirim S, Tekin M, Erbas M, Kiraz HA, Erdem H, Özkan A. Protective effects of ursodeoxycholic acid in experimental corrosive esophagitis injury in rats. *Ann Ital Chir*. 2017;88:82-86. <https://doi.org/10.4172/2167-065X.1000128>
- 10 Ozbayoglu A, Sonmez K, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Poyraz A, Gulbahar O, Basaklar AC. Effect of polaprezinc on experimental corrosive esophageal burns in rats. *Dis Esophagus*. 2017 Nov 1;30(11):1-6. <https://doi.org/10.1093/dote/dox104>
- 11 Bakan V, Ciralik H, Kartal S. A corrosive oesophageal burn model in rats: Double-lumen central venous catheter usage. *Afr J Paediatr Surg*. 2015;12(4):247-250. <https://doi.org/10.4103/0189-6725.172560>
- 12 Fang Q., Guo S, Zhou H, Han R, Wu P, Han C. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. *Sci Rep*. 2017;27(7):41440. <https://doi.org/10.1038/srep41440>
- 13 Ozbayoglu A, Sonmez K, Karabulut R, Turkyilmaz Z, Poyraz A, Gulbahar O, Basaklar AC.. The role of dimethyl sulfoxide (DMSO) in ex-vivo examination of human skin burn injury treatment. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2018;196:344-352. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.02.035>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Competing interests. The authors declare no competing interests.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Funding. This research received no external funding.

Соответствие нормам этики. Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе.

Compliance with ethical principles. The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study.

Авторская справка

**Карпова Ирина
Юрьевна**

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры детской хирургии, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия
e.mail: ikarpova73@mail.ru
ORCID 0000-0002-7964-6132

**Перетягин Петр
Владимирович**

младший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины с вивариумом, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0003-0707892X

- Орлинская Наталья Юрьевна** доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0003-2896-2968
- Потемина Татьяна Евгеньевна** доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0001-7228-344X
- Паршиков Вячеслав Владимирович** доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой детской хирургии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия
ORCID 0000-0002-9827-6763