

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.004

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.004>

## 一种简便的大鼠 II 度烫伤模型制备方法

丁毅<sup>1</sup>, 吾拉尔·阿德力<sup>2</sup>, 李敏<sup>1</sup>, 冯树梅<sup>1</sup>

(1. 新疆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室, 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学第一临床学院, 乌鲁木齐 830011)

**[摘要]** 目的: 观察砝码加热制备Wistar大鼠烫伤模型的效果。方法: 以纱布烫伤作为对照, 评估砝码烫伤制备大鼠烫伤模型的效果, 并分别从肉眼和镜下观察了不同制备方法下大鼠皮肤创面的形态结构改变。结果: 在温度100 °C、烫伤时间15 s的条件下, 分别用纱布和砝码烫伤Wistar大鼠。纱布烫伤模型组符合I度烫伤病理改变, 而砝码烫伤模型组符合II度烫伤病理改变。结论: 使用砝码进行大鼠烫伤模型的制备具有烫伤面积可控, 重复性好、稳定性强, 操作简便可行等优点, 适宜作为II度烫伤模型的简易制备方法, 为烫伤的发生和治疗研究奠定基础。

**[关键词]** 大鼠; 烫伤; 模型; 砝码烫伤; 纱布烫伤

## A simple preparation method of II degree scald model in rats

DING Yi<sup>1</sup>, WULAER Adeli<sup>2</sup>, LI Min<sup>1</sup>, FENG Shumei<sup>1</sup>

(1. Department of Histology and Embryology, Basic Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011;

2. The First Clinical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**Abstract** **Objective:** To observe the effect of using heating weights in a Wistar rat scald model. **Methods:** Gauze burns were used as a control to evaluate the effect of the method for preparing rat scald models by weight burns, and the morphological changes of rat skin wounds under different preparation methods were observed from eyes and microscope. **Results:** Wistar rats were burned with gauze and weights at a temperature of 100 °C and a burn time of 15 s, respectively. The pathological changes in the gauze scald model group and the weight scald model group were consistent with first- and second-degree burns, respectively. **Conclusion:** The preparation of rat scald model using weights has the advantages of controllable scald area, good repeatability, strong stability, easy operation, etc. It is suitable as a simple method for preparing a II degree scald model and lays the foundation for the research on the occurrence and treatment of scald.

**Keywords** rat; scald; model; scald with weight; scald with gauze

收稿日期 (Date of reception): 2020-05-08

通信作者 (Corresponding author): 冯树梅, Email: 87391167@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81660324, 81660521); 新疆医科大学教育教学研究与改革项目 (YG2019053)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81660324, 81660521) and the Educational Research and Reform Project of Xinjiang Medical University (YG2019053), China.

皮肤是人体最大的器官, 组织结构复杂, 具有多重生理功能。当意外烫伤或烧伤造成皮肤缺损时, 如何修复损伤皮肤, 促进皮肤的愈合已经成为临床最棘手的问题。烫/烧伤创面修复的研究与促进皮肤愈合的药物药效的研究均需要建立一个稳定的、规范的烫/烧伤模型。温度、压力、时间和烫伤面积准确, 以及可取得恒定的结果, 有可重复性, 并且方法简单的动物烫/烧伤模型制备是烫/烧伤模型稳定规范的前提<sup>[1-3]</sup>。已有文献[4-6]报道, 可以通过热水、热空气、电、精密温控装置等构建大鼠烫伤模型, 但因其烫伤面积不准确、深度不可控、操作不便, 且大部分装置十分昂贵, 导致各种方法无法广泛的使用。本文选取实验室中常见的砝码这一简易装置, 经加热用于烫伤模型制备, 同时以纱布烫伤作为对照, 观察砝码模型能否克服其他烫伤模型制备的缺点, 以期提供一种更为简便, 可行的烫伤模型制备方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及材料

#### 1.1.1 动物

健康40日龄Wistar大鼠, 体重100~130 g, 雌雄不限, 饲养温度: 20~25 °C, 湿度: 50%~60%, 自由饮食。大鼠由新疆医科大学实验动物中心提供。

#### 1.1.2 仪器

显微镜及摄影系统(Olympus, 日本), RM2135切片机(Leica, 德国), HB-P2石蜡包埋机(武汉汉谷医疗科技有限公司)。

#### 1.1.3 试剂

2%戊巴比妥钠、10%硫化钠、二甲苯、乙醇、二甲苯、生理盐水。

#### 1.1.4 其他材料

电动剃须刀、棉签、烧杯、电炉、纱布、直钳、50 g砝码、载玻片、盖玻片。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 脱毛

2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔内注射麻醉, 用电动剃须刀剔除背部长毛, 10%硫化钠脱毛剂均匀涂于背部脱毛区, 片刻后用棉签清除毛发, 清水洗净脱毛区。

#### 1.2.2 烫伤模型制备

##### 1.2.2.1 纱布烫伤模型的制备

脱毛24 h后第一组大鼠腹腔内注射2%戊巴比

妥钠(40 mg/kg)麻醉, 用纱布烫伤法造模<sup>[1]</sup>。将倒好水的烧杯用电炉加热至99 °C, 用约厚3 mm的纱布, 两侧用长镊子夹闭, 烫伤时, 将大鼠移近加热自来水的烧杯, 将纱布浸入热水中, 待水温恒定于99 °C时, 取出纱布, 立即平铺于待烫部位, 长镊方向与大鼠身体长轴平行, 以纱布接触大鼠皮肤后计时, 停留15 s, 时间一到立即将纱布移去, 然后立刻向大鼠腹腔内注射5 mL生理盐水抗休克治疗, 回笼饲养。

##### 1.2.2.2 砝码烫伤模型的制备

脱毛24 h后第2组大鼠腹腔内注射2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉, 用砝码烫伤法造模。将倒好水的烧杯用电炉加热至99 °C, 用镊子放入砝码, 待水温恒定于99 °C时, 用镊子取出砝码并置于烫伤大鼠背侧脱毛皮肤15 s, 其间以镊子稳定砝码位置即可, 无需额外给以压力。最后大鼠需腹腔注射5 mL生理盐水抗休克治疗, 然后与纱布烫伤组大鼠分笼饲养。

### 1.3 观察

大鼠烫伤造模后, 同等条件下动物分笼饲养, 自由进食饮水。在伤后24 h, 15 d观察大鼠伤后创面外观情况, 同时取大鼠烫伤24 h时创面的皮肤标本, 4%的多聚甲醛固定, 脱水透明, 石蜡包埋, 切片, 常规HE染色, 进行光镜组织病理学观察, 测量各时间点烫伤面积, 计算愈合率。

## 2 结果

### 2.1 创面一般情况

#### 2.1.1 纱布烫伤模型

烫伤24 h, 局部皮肤发红, 仅有轻微水肿, 肉眼无法明显分辨烫伤部位与正常区域(图1A)。伤后第2天可见小片状痂片, 边缘翘起, 伤后第8天从创面周边向中心愈合脱痂, 第15天后创面愈合, 愈合区毛发生长良好, 表皮光滑, 无皮肤疤痕形成(图1B)。

#### 2.1.2 砝码烫伤模型

大鼠烫伤后24 h烫伤部位形态规则, 与正常皮肤区域界限分明, 创面皮肤立即变白, 轻度肿胀, 但没有形成肉眼可见的水泡, 质地硬, 光泽差(图1C)。伤后第2天创面仍呈白色, 边缘清晰, 无光泽。伤后第8天, 创面有较厚较硬的结痂。伤后第15天后仍未脱痂, 未愈合(图1D)。

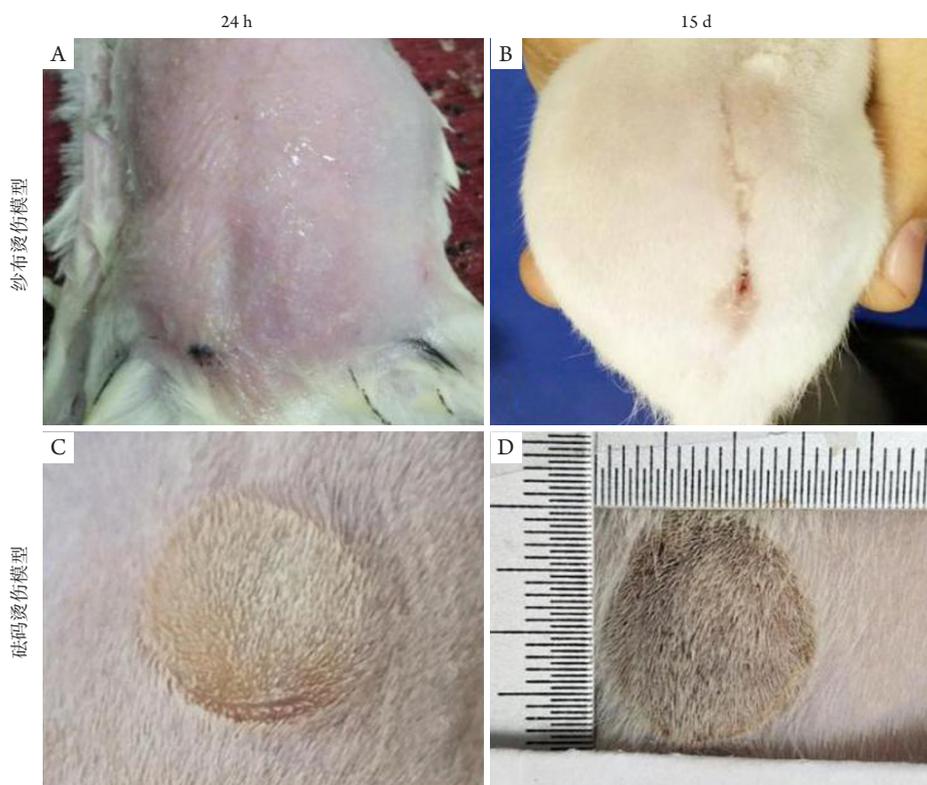


图1 大鼠烫伤后第1天和第15天皮肤形态观察结果图像

Figure 1 Results of skin morphology observation on the 1st and 15th day after scald in rats

(A) 纱布烫伤第1天后的小鼠创面; (B) 纱布烫伤第15天后的小鼠创面; (C) 砣码烫伤第1天后的小鼠创面; (D)砣码烫伤第15天后的小鼠创面。

(A) Wound surface of rats on 1st day after gauze scald; (B) Wound surface of rats on 15th day gauze scald; (C) Wound surface of rats on 1st day weight scald; (D) Wound surface of rats on 15th day weight scald.

### 2.1.3 愈合率

分别对24 h和第15天大鼠烫伤面积进行测量,发现第15天时纱布烫伤组创面愈合率为92%且已接近愈合,而砣码烫伤组愈合率为41.04%,尚存较大面积未愈创面(图2)。

## 2.2 组织病理学检查

### 2.2.1 正常未造模区域

大鼠正常对照表皮细胞排列整齐、层次分明、连续。上皮细胞胞核、细胞质着色良好,真皮层组织及附属结构如汗腺、毛囊结构清晰,细胞形态正常(图3A)。

### 2.2.2 纱布烫伤模型

组织切片HE染色结果显示:烫伤后24 h,大鼠表皮层剩余棘层,细胞明显变性,层次结构尚清楚,细胞核结构不清。真皮水肿、间质疏松,血管扩张、充血,毛囊上皮细胞结构尚清楚<sup>[7]</sup>。皮下组织中血管扩张、充血,以烫伤损伤的皮肤深度符合为I度烫伤标准(图3B)。

### 2.2.3 砣码烫伤模型

组织切片HE染色结果显示:烫伤后24 h,烫伤区域表皮细胞部分脱落,结构不清,明显变性、坏死,部分细胞已溶解,真皮层间质疏松、充血,大部分毛囊被破坏,结构不清,真皮深部可见残余毛囊。皮下组织血管扩张、充血、水肿明显,结构未破坏,此模型病理改变符合深Ⅱ度烫伤标准(图3C)。

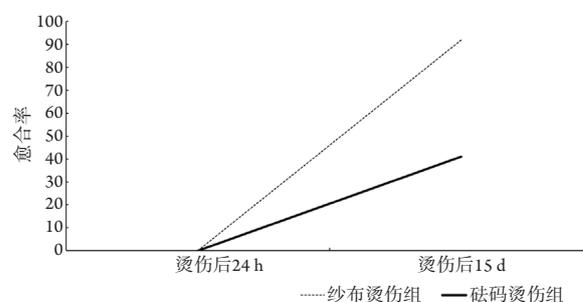


图2 纱布烫伤组与砣码烫伤组愈合率比较

Figure 2 Comparison of healing rate between gauze scald group and weight scald group

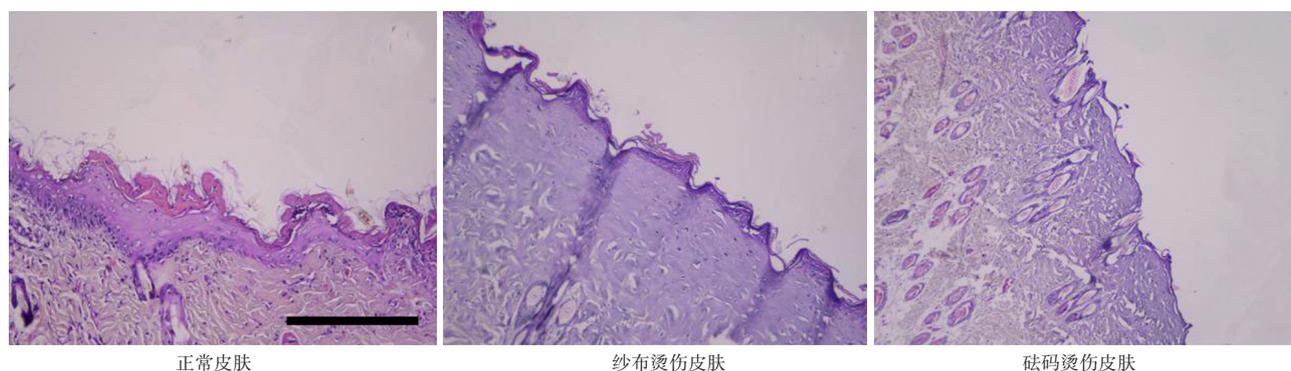


图3 烫伤后24 h皮肤组织病理学检查(比例尺, 10  $\mu\text{m}$ )

Figure 3 Histopathological examination of skin 24 hours after scald (Scale, 10  $\mu\text{m}$ )

### 3 讨论

建立动物烫/烧伤模型是现代烧伤外科领域进行研究时极为重要的实验方法,在烫伤研究实验中,究竟采用烧伤模型还是烫伤模型,取决于实验研究的目的和条件。目前国内外报道了多种有关烫/烧伤模型建立的方法<sup>[8]</sup>,从实际应用来看,烧伤模型更接近实际需要。但是从复制动物烫/烧伤模型的角度看,由于动物烫伤时温度容易控制,创面深度均匀一致,烫伤面积较易掌握,而烧伤的面积不可控,且烧伤深度不均匀,容易发生感染,增加皮肤的坏死率。故烫伤模型一般比烧伤模型稳定准确<sup>[9-11]</sup>。

目前实验性烫伤有恒温恒压烫伤法、直接热水烫伤法和纱布烫伤法。根据文献<sup>[12-13]</sup>报道:直接热水烫伤法存在致伤深度不易控制,烫伤面积较难控制,烫伤压力无法控制,精密装置昂贵等问题。恒温恒压烫伤法中使用的恒温恒压电烫仪<sup>[14]</sup>其可有效地控制烫伤的面积和深度,使用方便且重复性好。但该方法需要理想温控系统用恒定探头的温度及时地给探头补充热量且接触时间很难把握,日常维护繁琐、价格昂贵,仅能用于小动物小面积的烫伤研究。加热砝码造模是一种更加简便易行、经济适用,操作也更加容易的方法,在既往研究中也未见有过报道。本实验中制作了简易的烫伤仪器—加热砝码,进行了大鼠烫伤模型的制备,另一组大鼠使用了纱布烫伤模型制备方法。经比较,相同时间内纱布烫伤法可制备大鼠I度烫伤创面,砝码烫伤法可制备大鼠深II度烫伤创面。

砝码烫伤法烫伤面积可控且安全。纱布烫伤法覆盖面积大、质量轻,烫伤皮肤各处受压的压力不均匀,不能形成稳定的II度烫伤模型。沸水烫

伤法<sup>[14-16]</sup>因为液体具有流动性从而很难控制烫伤面积,现已很少用到。蒸汽烫伤法<sup>[17]</sup>需要高压蒸汽喷射到皮肤上,危险性大、安全系数低、容易造成非实验区损伤形成误差。而强脉冲光<sup>[18]</sup>只能进行小面积的烫伤造模,且成本高。火焰烧伤法比较简单,但易受风力和人为因素的影响,以致造成非造模部位的烧伤及烧伤深度的不均匀,烫伤的深度不容易控制;热水烫伤法大多运用恒温恒压水浴锅,其缺点为创伤面积与致伤温度不易精确、致伤深度不均匀以及致伤压力无法控制。以上方法都有一定的局限性。在小面积烫伤模型中,加热金属是最常用的方法,且在沸水中加热的金属圆柱体是最理想的热源<sup>[19-20]</sup>。Zheng等<sup>[21]</sup>曾使用不锈钢柱为热源,对小鼠的皮肤进行烫伤实验,但其材料昂贵,不易获得,因此有一定的缺陷型。砝码烫伤法有准确的烫伤面积,在研究烫伤面积时,我们可以控制不同面积的砝码来造成不同的烫伤面积,而且根据实验的需要,安全简便地制备各类烫伤模型,是上述方法所远远不能达到的。

砝码烫伤法深度可控。因其有一定的自重,满足一定的稳定性。在研究不同动物的不同烫伤模型的实验中,可以通过控制砝码的质量来控制烫伤的深度。砝码烫伤法可以建立II度烫伤,而传统的纱布烫伤法只能构建I度烫伤模型。未来我们将对不同重量或不同面积的砝码进行I度烫伤和III度烫伤模型的构建,拓宽加热砝码的适用范围。

砝码烫伤法温度更恒定。在纱布烫伤法中,纱布面积大,容易散热,导致在很短的时间内,其实际温度可能达不到99  $^{\circ}\text{C}$ 。所以在进行烫伤实验时,最后形成的烫伤皮肤模型可能达不到理想的实验模型。而砝码的热量损失比纱布的热量损失慢,所以在一定时间内,砝码的温度可以恒定在一定的

范围;而且砝码烫伤法具有快捷、重复性好、可操作性强、伤口符合临床实际情况等优点。

综上所述,砝码加热进行大鼠烫伤造模具有上述优点,当评价判断其烧伤深度是以伤后即时深度为准,还是以后续的伤后热力作用消失,创面不再加深,等到烧伤深度稳定后的深度为准?笔者认为以伤后即时的烫伤深度为准显然不妥,而应以伤后24 h烫伤深度稳定时的深度为标准,才能保证烫伤深度的一致性。砝码烫伤法的不足之处在于:受限于砝码的自重,对不同的实验动物,不同程度的烫伤模型应根据现实的实际需要,选取不同的砝码型号。本实验只使用了50 g的砝码进行烫伤模型的制备,而对更小或更大重量的砝码没有进一步实验。加热的砝码现在只能用于小面积烫伤模型的制备,还不能满足较大烫伤伤口的制备,且因为砝码自身的面积和重量,只能制备一些固定面积和深度的伤口,尚且不能满足不同实验的个性化需求。而且,在临床住院患者中,大面积烫伤占大多数,并有较多的全身性问题,同时伴有高发病率和病死率,增加感染的风险。对于需要大面积烫伤模型进行的研究,使用现有的加热砝码还不能满足这一需求。此外,用加热的砝码进行烫伤造模时,因其非恒温可调控,所以在造模过程中难免有一些热量的损失,造成烫伤模型一定程度的不准确性;且动物背部皮肤呈弧形,与砝码表面不能完全平行,烫伤造模时的中央与周边的烫伤皮肤所感受到的压力不均,导致创面烫伤程度不均一,应进一步对此方法进行改善。因此在实际进行砝码烫伤模型制备时应考虑这种烫伤创面的差异,以便准确进行烫伤机制的研究和诊疗处理。

## 参考文献

- 张立颖,李亚洁,扬磊. Wistar大鼠Ⅱ度烫伤模型的建立[J]. 护理研究, 2003, 17(11): 624-626.  
ZHANG Liying, LI Yajie, YANG Lei. Establishment of the second degree scald model in wistar rats[J]. Chinese Nursing Research, 2003, 17(11): 624-626.
- Singh M, Nuutila K, Minasian R, et al. Development of a precise experimental burn model[J]. Burns, 2016, 42(7): 1507-1512.
- 钟茜,张博,李高峰,等. VEGF抗体对大鼠烧伤休克影响的探索性研究[J]. 中国烧伤创疡杂志, 2017, 29(3): 161-164.  
ZHONG Qian, ZHANG Bo, LI Gaofeng, et al. An exploratory study on the effect of VEGF antibody on burn shock in rats[J]. The Chinese Journal of Burns Wounds & Surface Ulcers, 2017, 29(3): 161-164.
- Abdullahi A, Amini-nik S, Jeschke MG, et al. Animal models in burn research[J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(17): 3241-3255.
- Venter NG, Monte-alto-costa A, Marques RG, et al. A new model for the standardization of experimental burn wounds[J]. Burns, 2015, 41(3): 542-547.
- Campelo AP, Campelo MW, Britto GA, et al. An optimized animal model for partial and total skin thickness burns studies[J]. Acta Cir Bras, 2011, 26(Supplement 1): 38-42.
- Shupp JW, Nasabzadeh TJ, Rosenthal DS, et al. A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression[J]. J Burn Care Res, 2010, 31(6): 849-873.
- Mitsunaga Junior JK, Gragnani A, Ramos ML, et al. Rat an experimental model for burns: a systematic review[J]. Acta Cir Bras, 2012, 27(6): 417-423.
- Sayeed MM. Inflammatory/cardiovascular-metabolic responses in a rat model of burn injury with superimposed infection[J]. Shock, 2005, 24(Suppl 1): 40-44.
- Rosique MJ, Rosique RG, Faria FM, et al. Methylene blue reduces progression of burn and increases skin survival in an experimental rat model[J]. Burns, 2017, 43(8): 1702-1708.
- 刘沂霖,李利平,陈季玲,等. 大鼠皮肤急性深Ⅱ度β射线损伤创面愈合过程中的对比观察[J]. 中国烧伤创疡杂志, 2014, 26(1): 30-35.  
LIU Yilin, LI Liping, CHEN Jiling, et al. A comparative observation of wound healing of acute deep second degree skin injury in rats caused by β-ray[J]. The Chinese Journal of Burns Wounds & Surface Ulcers, 2014, 26(1): 30-35.
- 张大伟. 烧伤创面治疗药物药效学评价动物模型的建立[D]. 重庆第三军医大学, 2011.  
ZHANG Dawei. Establishment of rat model with scald and infection for drug evaluation[D]. Chongqing: Third Militarism Medicine University, 2011.
- Andrews CJ, Kempf M, Kimble R, et al. Development of a Consistent and Reproducible Porcine Scald Burn Model[J]. PLoS One, 2016, 11(9): e0162888.
- 贾赤宇,陈璧,刘毅,等. 恒温恒压电烫仪[J]. 第四军医大学学报, 1997, 18(2): 191-193.  
JIA ChiYu, CHEN Bi, LIU Yi, et al. Electrical scald instrument with constant temperature and pressure[J]. Fourth Militarism Medicine University, 1997, 18(2): 191-193.
- 曹蔚,崔芬芳,谢艳华,等. 椒目仁油合用盐酸小檗碱治疗烫伤的研究[J]. 科学技术与工程, 2011, 11(36): 8970-8973.  
CAO Wei, CUI Fenfang, XIE Yanhua, et al. The combined effect of the send oil from zanthoxylum bungeanum maxim and berberine on treatment of thermal burn[J]. Science Technology and Engineering,

- 2011, 11(36): 8970-8973.
16. Papp A, Kiraly K, Harma M, et al. The progression of burn depth in experimental burns: a histological and methodological study[J]. *Burns*, 2004, 30(7): 684-690.
  17. 姚庆君, 贾赤宇, 陈璧, 等. 一种大鼠蒸气烫伤模型的建立. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(3): 168-170.  
YAO Qingjun, JIA Chiyu, CHEN Bi, et al. Establishment of rat model of scalding with high pressure steam[J]. *Chinese Journal of Burns*, 2004, 20(3): 168-170.
  18. 王培森, 袁佩雯, 李勤雨, 等. 强脉冲光对大鼠II度烫伤模型的建立[J]. *科学技术与工程*, 2018, 18(22): 174-177.  
WANG Peisen, YUAN Peiwen, LI Qinyu, et al. Establishment of deep II degree scald model in rats by intense pulsed light[J]. *Science Technology and Engineering*, 2018, 18(22): 174-177.
  19. Gaines C, Poranki D, Du W, et al. Development of a porcine deep partial thickness burn model[J]. *Burns*, 2013, 39(2): 311-319.
  20. Xiao M, Li L, Li C, et al. Role of autophagy and apoptosis in wound tissue of deep second-degree burn in rats[J]. *Acad Emerg Med*, 2014, 21(4): 383-391.
  21. Zheng B, Shen C, Sun J, et al. Developing a Simple Burn Model in Rats of Different Ages[J]. *J Burn Care Res*, 2019, 40(5): 639-647.

**本文引用:** 丁毅, 吾拉尔·阿德力, 李敏, 冯树梅. 一种简便的大鼠II度烫伤模型制备方法[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(3): 517-522. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.004

**Cite this article as:** DING Yi, WULAER Adeli, LI Min, FENG Shu-Mei. A simple preparation method of II degree scald model in rats[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(3): 517-522. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.004