

## 滇南小耳猪深Ⅱ度烧(烫)伤模型的建立

刘彦<sup>1)</sup>, 郭徽<sup>1)</sup>, 缪玉兰<sup>2)</sup>, 胡冬雄<sup>1)</sup>, 张幻诗<sup>1)</sup>, 钱忠义<sup>3)</sup>, 杨建宇<sup>1,3)</sup>

(1) 昆明医科大学海源学院, 云南昆明 650106; 2) 昆明医科大学第二附属医院, 云南昆明 650101;  
3) 昆明医科大学基础医学院, 云南昆明 650500)

**[摘要]** **目的** 探索滇南小耳猪背部皮肤深Ⅱ度烧(烫)伤模型的制作方法。 **方法** 分别使用混合燃料和高温铜块在不同时间内对滇南小耳猪背部皮肤进行致伤, 取烧(烫)伤创面组织进行苏木精-伊红对染法(HE染色), 观察不同致伤时间猪背部皮肤的烧(烫)伤深度, 从而建立猪背部深Ⅱ度烧(烫)伤模型。 **结果** 混合燃料及高温铜块在不同致伤时间内可造成不同深度的烧(烫)伤。而使用混合燃料烧伤30 s或高温铜块烧(烫)伤70 s可以造成猪深Ⅱ度烧(烫)伤模型, 成功率达94.4%, 95%CI为72.71%~99.86%。 **结论** 使用混合燃料烧伤30 s或高温铜块烧伤70 s可以成功建立猪深Ⅱ度烧(烫)伤模型。

**[关键词]** 滇南小耳猪; 混合燃料; 高温铜块; 深Ⅱ度烧(烫)伤模型

**[中图分类号]** R644 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2015)02-0010-05

## Establishment of the Deep Second Degree Burn Models in Diannan Xiaoer Pigs

LIU Yan<sup>1)</sup>, GUO Hui<sup>1)</sup>, MIAO Yu-lan<sup>2)</sup>, HU Dong-xiong<sup>1)</sup>, ZHANG Huan-shi<sup>1)</sup>, QIAN Zhong-yi<sup>3)</sup>,  
YANG Jian-yu<sup>1,3)</sup>

(1) Dept. of Pharmacology, School of Haiyuan, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650106; 2) The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 3) School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the methods of establishing the deep second degree burn models in the DianNan XiaoEr pigs. **Methods** The DianNan XiaoEr pigs were injured by the mixed fuel or the heat copper blocks at different times on the back. Then the tissues from the burn wounds were drawn and dyed with hematoxylin-eosin. All sections were observed and estimated by the depth of burn injury, Therefore, the deep second degree burn models in the DianNan XiaoEr pigs were successfully built. **Result** The mixed fuel or the heat copper blocks could lead to different degree burn. Applications of the mixed fuel flamed in 30 seconds or the heat copper blocks scalded in 70 seconds can both lead to the deep second degree burn in the DianNan XiaoEr pigs with a success rate of 94.4%, and 95%CI of 72.71%~99.86%. **Conclusion** Applications of the mixed fuel flamed in 30 seconds or the heat copper blocks scalded in 70 seconds can both successfully build the deep second degree burn models in the DianNan XiaoEr pigs.

**[Key words]** DianNan XiaoEr pigs; Mixed fuel; Heat copper blocks; Deep second degree burn models

对烧伤后病理生理变化、新治疗方法和新药疗效的探索和验证, 不可能完全依靠临床研究, 而必须有赖于实验研究的帮助。因此, 人们在实践

中制成了各类实验性烧伤模型, 以期更有效地研究烧伤提出的实验性烧伤模型要有一定的重复性和可比性, 并尽可能的接近临床实际, 使实验所得结果

**[基金项目]** 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助项目(2011FB246); 云南省科技厅应用基础研究基金资助项目(2011FZ126)

**[作者简介]** 刘彦(1978~), 女, 云南个旧市人, 大学本科, 实验师, 主要从事病理学教学及研究工作。郭徽与刘彦对本文有同等贡献。

**[通讯作者]** 杨建宇. E-mail: yjy690125@sina.com

能为临床应用<sup>[1]</sup>。

由于猪的皮肤结构与人类类似,常用于烧伤创面用药(如局部抗感染药和脱痂药物)的研究<sup>[1,2]</sup>。本研究以云南省特有的滇南小耳猪为实验对象,选择月龄5~6个月、体重15~20 kg的滇南小耳猪为实验对象,其皮肤结构更为接近人的皮肤结构<sup>[3]</sup>。根据临床实际情况及操作的可行性,本实验采用火焰直接烧伤和铜块烧(烫)伤的方法<sup>[2,4]</sup>来复制猪深Ⅱ度烧(烫)伤模型,现将本研究报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选择13头健康的封闭群滇南小耳猪为实验对象,雌雄不限,月龄4~5个月、体重15~20 kg,实验动物使用许可证编号:SYXK(滇)2011-0004。

### 1.2 仪器与试剂

秒表、组织包埋机(YT-6B 湖北孝感亚光医用电子技术研究所)、烤箱(BHT ARTHUR H. THOMAS CO. USA)、切片机(Leica RM2235)、组织贴片机(YT-6B 湖北孝感亚光医用电子技术研究所)、显微镜、显微摄影系统(徕卡 Leica DM4000B (德国):采图显微镜 Leica DM4000B 高级显微镜、数码相机 LaicaDFC320、摄影软件 Leica IM50)、1%戊巴比妥钠、混合燃料(汽油:100 mL;95%酒精:100 mL;二甲苯:100 mL;松香:100 g;生胶:6 g)<sup>[2,4]</sup>和8 cm×5 cm×2 cm体积的铜块(重0.7 kg)。

### 1.3 方法

**1.3.1 麻醉与去毛** 用3%戊巴比妥钠按照30 mg/kg(即1 mL/kg)麻醉猪;在麻醉状态下用小动物电动剃刀或剃须刀片剃干净背部猪毛。

**1.3.2 预实验** 用混合燃料在脊柱一侧旁开1 cm处涂抹5个烧伤区域,烧伤区周围的被毛和皮肤以浸水湿纱布保护,按照不同的时间,分别用混合燃料烧10、15、20、25及30 s,造成猪5处不同程度的烧伤;然后在猪背部脊柱的另一侧用0.7 Kg重的铜块,按照不同的时间,分别以40、50、60和70 s用高温铜块造成猪不同程度的烧(烫)伤。致伤后分别取9个创面组织送病检进行HE染色,以确定烧伤的深度。

**1.3.3 使用混合燃料建立深Ⅱ度烧伤动物模型** 按照预实验的结果,用混合燃料分别在6头猪背部的两侧烧伤8个创面,致伤后即时取18个创面组织进行HE染色,以进一步确定烧伤的深度,拟建

立深Ⅱ度烧伤动物模型。

**1.3.4 使用高温铜块建立深Ⅱ度烧(烫)伤动物模型:**按照预实验的结果,使用0.7 kg重的铜块分别在6头猪背部的两侧烧(烫)伤8个创面,致伤后即时取18个创面组织进行HE染色,以进一步确定烧(烫)伤的程度,拟建立铜块深Ⅱ度烧(烫)伤动物模型。

### 1.4 模型成功率(the success rate, SR)计算方法

每头猪各取3个点,2种致伤方法各18个点,按照以下公式计算:

$$SR = \frac{B}{T} \times 100\%$$

B为深Ⅱ度烧伤模型的数量,T为烧伤猪的第一次总的取组织数。同时利用PEMS软件估计样本单个总体率的CI,总率的95%。

## 2 结果

### 2.1 预实验结果

**2.1.1 正常组织 HE 染色结果** 封闭群滇南小耳猪的正常皮肤结构层次清楚,基底层细胞呈立方形,排列整齐。表皮真皮完整,皮肤附属器健在,未见充血、水肿(图1)。

**2.1.2 不同时间内火焰烧伤后组织的 HE 染色结果** 烧伤10S后猪皮肤结构层次清楚,表皮局部细胞变性,皮肤附属器健在。真皮浅层毛细血管扩张充血,轻度水肿(图2);属于Ⅰ度烧伤。

烧伤15S猪皮肤结构层次清楚,表皮局部细胞变性,表皮层水肿,局部表皮与真皮层间出现水肿。皮肤附属器健在;真皮浅层毛细血管扩张充血,轻度水肿(图3)。属于浅Ⅱ度烧伤。烧伤20 s后皮肤结构层次清楚,表皮局部细胞变性脱落,表皮与真皮层间出现明显水肿。皮肤附属器健在。真皮浅层毛细血管扩张充血,轻度水肿,少数炎细胞渗出(图4)。属于浅Ⅱ度至深Ⅱ度烧伤。

烧伤25 s后猪的表皮与真皮层间出现明显水肿,较多表皮细胞变性坏死,生发层细胞也出现坏死。皮肤附属器健在。真皮浅层毛细血管扩张充血,轻度水肿,炎细胞渗出(图5)。属于浅Ⅱ度至深Ⅱ度烧伤。烧伤30 s后猪的是表皮与真皮层间出现明显水肿,出现表皮与真皮间水泡,散在表皮和真皮浅层细胞变性坏死,大片表皮全层坏死脱落;生发层细胞也出现散在坏死;皮肤附属器尚在;真皮浅层毛细血管扩张充血,明显水肿,炎细胞大量渗出(图6),属于深Ⅱ度烧伤。

**2.1.3 不同时间高温铜块致伤后组织的 HE 染色结**

果

烫伤 40 s 后滇南小耳猪的皮肤表皮与真皮层间出现水肿, 可见部分表皮细胞变性坏死, 少数生发层细胞出现坏死。皮肤附属器健在。真皮浅层毛细血管扩张充血, 轻度水肿, 炎细胞渗出 (图 7)。属于浅 II 度烧 (烫) 伤。表皮与真皮层间出现明显水肿, 可见表皮细胞变性坏死, 生发层细胞也出现坏死。皮肤附属器健在。真皮浅层毛细血管扩张充血, 轻度水肿, 炎细胞渗出 (图 8)。属于浅 II 度至深 II 度烧 (烫) 伤。

烫伤 60 s 后猪的表皮与真皮层间出现明显水肿, 较多表皮细胞变性坏死, 生发层细胞也出现坏死; 皮肤附属器健在; 真皮浅层毛细血管扩张充血, 轻度水肿, 炎细胞渗出 (图 9)。属于 II 度至深 II 度烧 (烫) 伤。烫伤 70 s 后猪的表皮与真皮层间出现明显水肿, 较多表皮细胞变性坏死, 生发层细胞也出现坏死。部分皮肤部分附属器健在。真皮层毛细血管扩张充血, 水肿, 炎细胞大量渗出 (图 10)。属于深 II 度烧 (烫) 伤。

## 2.2 烧烫伤实验结果

用混合燃料烧伤 30 s 或用高温铜块致伤 70 s 后, 即时取 36 个创面组织进行病理学检查, 对所取创面组织经 HE 染色后确认, 2 种方法致伤创面组织中, 各有 1 例为浅 II 至深 II 度烧 (烫) 伤, 其余均为深 II 度烧 (烫) 伤。

## 2.3 模型成功率

通过模型成功率的计算公式对上述烧烫伤结果的计算, 采用混合燃料烧伤 30 s 或用高温铜块致伤 70 s 建立深 II 度烧 (烫) 伤模型的成功率达到 94.4%, 其 95%CI 为 72.71% ~ 99.86%。

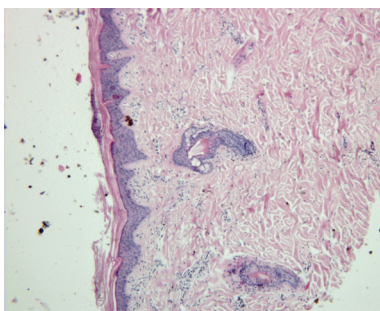


图 1 滇南小耳猪的未致伤皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 1 Intact skin tissue of DianNanXiaoEr pig (HE × 100)

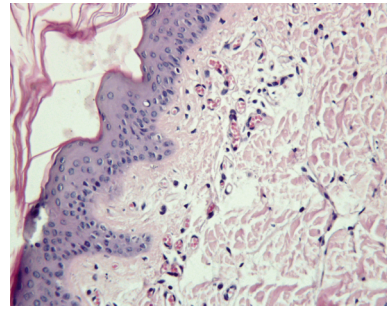


图 2 火焰烧伤 10 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 2 Injured skin tissue (10 seconds after burn by fuel) (HE × 100)

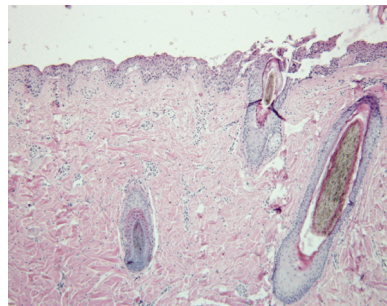


图 3 火焰烧伤 15 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 3 Injured skin tissue (15 seconds after burn by fuel) (HE × 100)

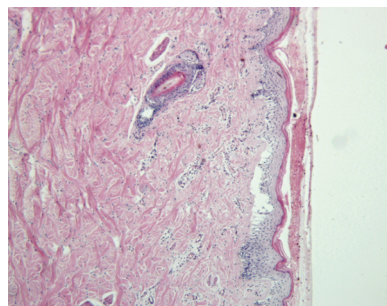


图 4 火焰烧伤 20 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 4 Injured skin tissue (20 seconds after burn by fuel) (HE × 100)

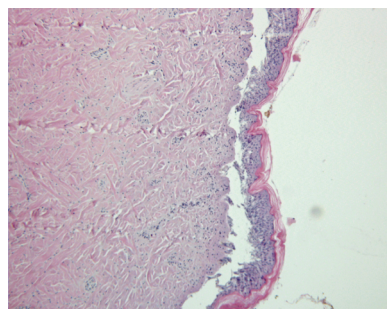


图 5 火焰烧伤 25 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 5 Injured skin tissue (25 seconds after burn by fuel) (HE × 100)

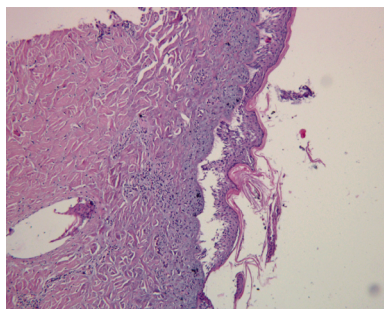


图6 火焰烧伤 30 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 6 Injured skin tissue (30 seconds after burn by fuel) (HE × 100)

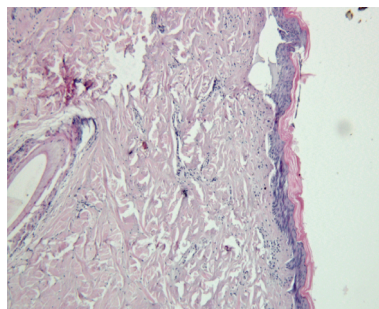


图10 铜块致伤 70 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 10 Injured skin tissue (70 seconds after burn by copper blocks) (HE × 100)

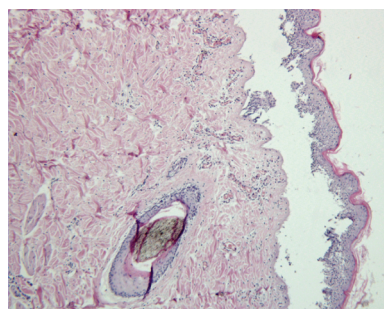


图7 铜块致伤 40 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 7 Injured skin tissue (40 seconds after burn by copper blocks) (HE × 100)

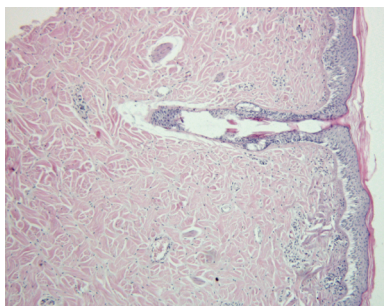


图8 铜块致伤 50 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 8 Injured skin tissue (50 seconds after burn by copper blocks) (HE × 100)

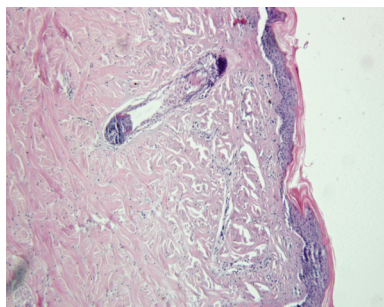


图9 铜块致伤 60 s 后的皮肤组织 (HE × 100)

Fig. 9 Injured skin tissue (60 seconds after burn by copper blocks) (HE × 100)

### 3 讨论

近年来,本课题组前期研究主要通过建立小鼠、大鼠颈背部皮肤的Ⅱ~Ⅲ度烧、烫伤及烙伤的模型来研究药物的疗效<sup>[5-7]</sup>。因大、小鼠的皮肤在结构、增生动力学和体毛的疏密程度,以及皮肤烧伤后的体液和代谢变化等与人的皮肤相去甚远,与临床实践有一定的距离,对临床的指导意义不大。

由于猪的皮肤与人非常相似,包括体表毛发的疏密、表皮厚薄、皮下脂肪层、表皮形态学和增生动力学(猪 30 d,人 21 d),以及皮肤烧伤后的体液和代谢变化等均非常相似,故猪是进行烧伤研究的较理想动物<sup>[2]</sup>。

我国具有丰富的小型猪资源,昆明医科大学动物学部滇南小耳猪封闭群是昆明医科大学利用滇南小型猪资源培育的实验猪品系,具有较好的稳定性和敏感性<sup>[8]</sup>。近 10 a 来,滇南小耳猪在基因工程<sup>[9]</sup>、组织修复<sup>[10]</sup>、器官移植<sup>[11]</sup>、糖尿病模型的建立<sup>[12]</sup>和心血管疾病的研究<sup>[13]</sup>中发挥越来越重要的作用。但经检索近 10 a 来的文献,未发现国内外有建立滇南小耳猪深Ⅱ度烧烫伤模型的研究。笔者想通过建立猪深Ⅱ度烧(烫)伤模型进一步研究各种烧(烫)伤创面用药的疗效。

本研究以云南省特有的滇南小耳猪为实验对象,为了使实验动物的体表烧伤更接近人,必须去除动物体表的被毛;另外,由于动物的被毛生长迅速,通常在致伤时去毛。考虑使用 20% 硫化钠脱毛剂会造成对猪皮肤的化学损伤,故实验前仅将表皮猪毛剃除<sup>[1]</sup>。

当分析热力对于组织细胞的影响时,必须同时考虑两个因素,及温度高低和接触时间长短,它们共同决定了细胞的损伤程度。温度越高,接触时间越长对细胞的损伤越重,反之亦然。本实验

建立在猪烧(烫)伤模型时,为保证模型的稳定性及可重复性,以秒表计时,精确控制烧(烫)伤的时间;另外,在使用高温铜块致伤时,用红外测温仪控制铜块的表面温度在 72℃~75℃范围内,才进行烧(烫)伤。而不同层次和深度的烧(烫)伤引起的组织细胞变性坏死,决定了创面的修复方式,并直接影响预后;对于人的皮肤来说:I度烧伤又称红斑性灼伤,由于基底细胞健在,无需特殊治疗,不影响预后,无疤痕;浅II度烧伤累积表皮全层和部分真皮浅层乳头层血管扩张充血,表皮与真皮分离,其间有血浆样液体渗出,形成水泡,由于表皮浅层有丰富神经末梢,疼痛明显,真皮层中的毛囊、汗腺和皮脂腺等附属器健在,2周内可以自愈;而深II度烧伤累积到真皮深层,由于真皮细胞变性肿胀,坏死组织阻止了水肿液向皮肤表面渗出,故创面无水泡,神经受损,感觉迟钝,创面基底苍白,可见毛细血管丛充血而致的散在红点,真皮层中还有部分的毛囊、汗腺和皮脂腺等附属器健在,需要3~5周才能康复,有疤痕;而III度烧伤则累积皮肤全层,深达皮下组织,甚至深及肌肉和骨骼,被烧伤的皮肤各层均坏死,创面苍白或蜡黄,形成焦痂,神经末梢损毁,痛觉丧失,深部血管从栓塞,创面可见粗大的树枝状栓塞血管网,不能自愈,甚至死亡<sup>[1]</sup>。国外的研究亦对深二度烧伤有类似的详尽描述<sup>[14]</sup>。由于此类烧伤治疗后会在烧伤部位留下大面积的疤痕组织,并产生后续高昂的医药费用<sup>[15]</sup>。故作为筛选药物的烧(烫)伤模型,无疑深II度烧(烫)伤模型是最适合的,即可以充分考察药物的疗效,又不至于使动物造成不可逆损伤甚至死亡。

本实验研究的结果显示,用混合燃料烧伤 30 s 或用高温铜块致伤 70 s 可建立滇南小耳猪背部深II度烧(烫)伤模型。

### [参考文献]

[1] 杨宗城. 烧伤治疗学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出

版社,2006:621,629,620-631.

- [2] 张静,赵自刚主编. 医学科研方法学[M]. 北京:军事医学科学出版社,2008:103-104.
- [3] 苗明三,朱飞鹏主编. 常用医药研究动物模型[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:288.
- [4] 汪谦主编. 现代医学实验方法[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,2009:861-863.
- [5] 杨建宇,杨泳等. 复方制剂对烧烫伤治疗的实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2007,28(3):36-37.
- [6] 滕佳,郭徽,杨建宇,等. 复方制剂对小鼠烙伤治疗的实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(7):57-58.
- [7] 傅映平,孙千鸿,刘彦,等. PPE复方制剂对大鼠烧伤治疗的实验研究[J]. 昆明医学院学报,2010,31(6):11-15.
- [8] 角建林,李进涛,何保丽,等. 封闭群滇南小耳猪体重和脏器重量的测定及相关性分析[J]. 昆明医科大学学报,2013,34(1):32-35.
- [9] 王鑫,李彦林,金耀峰,等. BMP-2/BMP-2、TGF- $\beta$ 3重组腺病毒载体的构建及其在重组腺病毒载体的构建及其在滇南小耳猪BMSCs中的表达[J]. 中国修复重建外科杂志,2014,28(7):896-902.
- [10] 陈刚,白建华,刘其雨,等. 脱细胞真皮基质补片修复滇南小耳猪胆管损伤[J]. 中国组织工程研究,2012,16(12):2141-2144.
- [11] 王芳,舒跃,周云辉,等. 滇南小耳猪原位心肺联合移植过程的手术配合[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(8):12-13.
- [12] 孙若飞,王昆华,赵泉,等. 2型糖尿病滇南小耳猪动物模型的建立[J]. 实验动物学,2012,29(5):37-40.
- [13] 黄栋,张桂敏,杨鸿生,等. 滇南小耳猪人工瓣膜置换模型的建立[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(31):5835-5838.
- [14] RMJOHNSON,RRICHARD. Partial-thickness burns: identification and management [J]. Advances in Skin Wound Care,2003,16(4):178-187.
- [15] SFSWAIM,SHHINKLE,DMBRADLEY. Wound contraction:basic and clinical factors [J]. Compendium on continuing education for the practicing veterinarian,2001,23(1):20-33.

(2014-12-04 收稿)