



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

تقييم التغيرات الحيوية للجروح المستحدثة في جلد الجرذان واستخدامها في تقدير عمر الجرح: دراسة مرضية نسجية وكيميائية نسجية مناعية

محمد عدنان محمد صالح

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الامراض البيطرية

بإشراف
الاستاذ المساعد الدكتور
وسيم حنا كرومي الجميل

الخلاصة

إن عملية تحديد عمر الجروح وحيويتها تعدّ من المسائل ذات الأهمية العالية في الطب العدلي، حيث يعتمد عليها أخصائي هذا المجال لإعادة مسرح الجريمة، والوصول الى الجاني من خلال الكشف عن المدة الزمنية للجروح وتحديد حيويتها إذا حدثت قبل الموت او بعده. هدفت هذه الدراسة الى تحديد عمر الجروح وحيويتها من خلال الاعتماد على الخصائص النسجية لعملية التئام الجروح، فضلاً عن تقييم فعالية الوسيطات الالتهابية (الانترلوكين السادس Interleukin-6، عامل نخر الورم- ألفا Tumor Necrosis Factor alpha) و مؤشرات الخلايا الالتهابية المتمثلة بمجاميع التمايز Cluster of Differentiation (CD15، CD68) بوصفها مؤشرات عالية الدقة لتحديد عمر الجروح وحيويتها.

أجريت هذه الدراسة على 39 جرداً على عينات الجلد المجروح، إذ أحدثت جروح خطية في جلد الجرذان، ثم أخذت العينات بعد انقضاء الفترة الزمنية لكل مجموعة وحفظها في الفورمالين الدارئ 10% لغرض الفحص النسجي المرضي باستخدام الصبغة الروتينيه الهيماتوكسلين والايوسين، والفحص الكيميائي النسجي المناعي، وأخذت جميع العينات في مجاميع الجروح الحيوية بعد 30 و 60 و 180 و 360 دقيقة من احداث الجرح، وفي مجاميع الجروح غير الحيوية أخذت عينات الجلد المجروح بعد 30 و 60 و 180 و 360 دقيقة بعد الموت مع عينات مجاميع السيطرة (جلد بدون جروح)،

أشار الفحص النسجي المرضي لمجاميع الجروح الحيوية في جلد الجرذان الى وجود استجابة التهابية تمثلت في النزف والاحتقان و توسّع قطر الأوعية الدموية القريبة من موقع الجرح، فضلاً عن استجابة الخلايا الالتهابية التي تمثلت بارتشاح العدلات Neutrophils والخلايا البلعمية Macrophages، حيث لوحظ بدء ارتشاح العدلات عند الدقيقة 30 من عمر الجروح وزيادتها بشكل كبير في الدقيقة 60 حتى الدقيقة 360 دقيقة من عمر الجروح الحيوية، فيما لوحظ بدء ارتشاح الخلايا البلعمية بصورة واضحة بعد الدقيقة 180 من عمر الجروح، لتصل الى أعلى مستوى في الدقيقة 360 من عمر الجروح الحيوية، فيما اقتصرت التغيرات النسجية المرضية في الجروح غير الحيوية على وجود نزف دموي، فضلاً عن ملاحظة علامات التحلل الذاتي Autolysis بعد مرور 180 دقيقة من عمر الجروح.

فيما أشار الفحص الكيميائي النسجي المناعي الى بدء ارتشاح الخلايا المعبرة عن سي دي 15 في الدقيقة 30 من عمر الجروح الحيوية وشهدت مجموعة الجروح بعمر 360 دقيقة من عمر الجروح الحيوية ارتشاحاً كثيفاً للخلايا المعبرة عن سي دي 15، حيث تجاوزت بكثير نسبة الخلايا المرتشحة في كل من الدقيقة 30 و 180 من عمر الجروح الحيوية، فيما أشار الفحص الكيميائي النسجي المناعي عن بدء ارتشاح الخلايا البلعمية المعبر عن سي دي 68 في الدقيقة 30 من عمر الجروح الحيوية، ولكن بأعداد قليلة جداً تبدأ بالازدياد في الدقيقة 180 من عمر الجروح وتصل الى أعلى مستوى للارتشاح في الدقيقة 360 من عمر الجروح الحيوية، و نظراً لعدم ارتشاح الخلايا المعبرة عن كل من سي دي 15 و سي دي 68 في جميع الفترات الزمنية لمجاميع الجروح غير الحيوية، يمكن الاعتماد على هذه المؤشرات في تحديد الجروح الحيوية من الجروح غير الحيوية.

علاوة على ذلك كشفت نتائج الفحص الكيميائي النسجي المناعي للدراسة الحالية أن الوسيطات الالتهابية الأنترلوكين-6 وعامل نخر الورم ألفا، لم يتم التعبير عنهم في عينات الجلد غير المجروح، فيما لوحظ أول تعبير عن كلا الوسيطات الالتهابية في الدقيقة 30 من عمر الجروح الحيوية، بينما زاد التعبير عن هذه الوسيطات عند الدقيقة 180 وبلغ شدته عند الدقيقة 360 من عمر الجروح الحيوية، فيما لم يعبر عن الأنترلوكين-6 وعامل نخر الورم ألفا أو عبر عنهم بشدة منخفضة جداً في المناطق البعيدة عن حواف الجرح في الجروح الحيوية والعينات غير المجروحة والجروح غير الحيوية.

واستنتجت هذه الدراسة انه بالإمكان الاعتماد في تحديد عمر الجروح وحيويتها على الفحص النسجي المرضي، وذلك بالاعتماد على نسبة ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالعدلات والخلايا البلعمية في الجرح التي تعد مؤشراً حيوياً مهماً للجروح الحيوية، كذلك يمكن الاعتماد على الوسيطات الالتهابية مثل الأنترلوكين-6 وعامل نخر الورم ألفا، فضلاً عن مؤشرات الخلايا الالتهابية CD15، CD68 باستخدام الفحص الكيميائي النسجي المناعي للكشف عن مستويات التعبير عن هذه المؤشرات واستخدامها لتحديد عمر الجروح وحيويتها.

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



**Evaluation of biological changes in rat skin
wounds and its use in wound age
estimation: Histopathological and
immunohistochemical study**

Mohammed Adnan Mohammed Saleh

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Pathology

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Waseem Hanna Karoomi Al-Jameel

2022 A.D.

1444 A.H.

Abstract

Determination of wound age and vitality is a critical problem in forensic medicine, where specialists rely on it to return to the crime scene and find the offender by identifying the time period of the wounds and determining their vitality if they occur before or after death. In this study, we planned to assess the histopathological changes in the experimental incisional wounds along the different periods of time related with ante-mortem or post-mortem times during the first minutes and hours. In addition, to find out the correlation between the degree of expression of inflammatory cells markers (CD15, CD68) and inflammatory mediators marker (IL-6, TNF- α) and the times of wounds in ante-mortem and post-mortem in rats.

Thirty-nine rats wound skin biopsies were studied.. Linear wounds were inflicted on the rats' skin, and samples were obtained after each group's time period expired and maintained in the 10% Neutral Buffered Formalin for histopathological evaluation and immunohistochemical examination. samples were taken in ante-mortem groups at the ages of 30, 60, 180, and 360 min and in post-mortem groups within 30, 60, 180, and 360 min with control samples (unwounded group)

The histopathological examination of the wound groups prior to death revealed vital reactions such as bleeding, congestion, and expansion of the diameter of blood vessels near the wound site. For the ante-mortem wounds in all time intervals examined, the number of neutrophil and macrophage in the wound was shown. neutrophil appeared at 30 min and sharply increased from 60 min until 360 minutes of the wound. In addition, there was an increased in macrophages from 180 min after the wound. The histopathological changes in wounds after death were restricted to hemorrhage, with symptoms of autolysis shown 180 minutes beyond the wounds' lifetime.

Immunohistochemical results showed that the number of stained cells with CD15 were significantly expressed in all time intervals of ante-mortem compare with post-mortem wounds. CD15-positive neutrophils were expressed in ante-mortem wound with a minimum interval time of 30 min. In addition, the ratio of CD15-positive neutrophils after 360 min from injury considerably exceeded those after 30 and 180 min from injury. Immunohistochemical results showed that the number of CD68-positive macrophages began at 30 minutes in ante-mortem wound, but very few began to increase at 180 minutes and reached the highest level at 360 minutes. Because the negative expression of CD15 and CD68 in all post-mortem groups, they could be a marker for comparing between the ant-mortem and post-mortem wounds.

Furthermore, the Immunoreactive findings of the current study showed that inflammatory mediators (IL-6 and TNF- α) were not expressed in unwounded skin samples and the periods after the induction wound produced an increase in the expression area of both markers. The earliest expression of both inflammatory mediators was noticed in 30 min ante-mortem wound time whereas the reactivity increased at 180 min and peaked at 360min. In this study, the expression of IL-6 and TNF- α were negative or low in areas far from wound margin in ante-mortem wounds, unwounded specimens and the post-mortem wounds.

This study suggests that it is feasible to use histopathological examination to estimate the age and vitality of the wound based on the appearance of inflammatory cells in the wound, which is an essential biomarker of vital wounds. In addition, immunohistochemical testing may be used to identify the levels of expression of inflammatory mediators and inflammatory cell markers, which can then be used to estimate the age and vitality of the wounds.