

Особливості регенеративних процесів в опіковій рані тварин молодого віку при використанні хітозанових плівок

Корнієнко В.В.

За даними ВОЗ опіки зовнішніх покривів займають третє місце в структурі травм. Опіки є одинадцятю за значимістю причиною смерті дітей у віці від 1 до 9 років і п'ятою за значимістю причиною не смертельних дитячих травм. Опікові травми потребують спеціалізованого, в тому числі хірургічного, лікування у 35% постраждалих дітей. У 2-4% вони призводять до інвалідизації. Найбільш часто опіки у дітей зустрічаються внаслідок впливу рідин високої температури. Слід зауважити, що опіки окропом є найпоширенішою причиною опікових ушкоджень у маленьких дітей. Понад 65 % опіків окропом трапляються у дітей до 2 -х років.

Поширеність серед дитячого населення опікових ран, тривалість їх перебігу, недостатня ефективність існуючих методів терапії, великий відсоток ускладнень та інвалідизації постраждалих обумовлюють актуальність проблеми термічних уражень. Це визначає необхідність подальшого пошуку нових і вдосконалення відомих засобів і методів лікування, які б стимулювали репаративні процеси в ранах. Особливо актуальне це питання для осіб молодого віку, процеси фізіологічної та репаративної регенерації яких, здатні найбільш активно реагувати на стимулюючий вплив місцевих засобів медичного призначення. Поглиблене вивчення механізмів дії цих засобів, в тому числі із застосуванням морфологічних методів дослідження, дозволить розширити

уявлення про можливі шляхи оптимізації ведення ранового процесу [15, 18].

Патогенез опікових ушкоджень зумовлений деструктивними змінами тканинних структур у ділянці опіку, появою оксидів та вільних радикалів, які змінюють рН середовища та негативно впливають на репаративні процеси в рані. Останнім часом перспективним напрямком в розробці нових перев'язувальних матеріалів для лікування опікових ушкоджень є розробка біологічно активних ранових покриттів, до яких можна віднести матеріали, створені на основі хітозану. Особливістю дії хітозану, який є полісахаридом тваринного походження, поряд зі здатністю сорбувати токсичні речовини та проявляти антимікробні властивості [11, 19], є участь в регулюванні місцевого водно-електролітного гомеостазу, а також його антиоксидантні властивості. Препарати на основі хітозану стимулюють репаративні процеси, в основному впливаючи на макрофагальну ланку запально-репаративної реакції, а також стимулюють секрецію медіаторів запалення, таких як інтерлейкін 8, простагландин E, інтерлейкін 1 β тощо [8]. Здатність до біогдеградації, добре моделювання на раневих ділянках шкіри та прозорість забезпечує можливість спостереження за поверхнею рани без зміни покриття та запобігає її вторинному інфікуванню [7].

Тому, метою дослідження стало вивчення морфологічних особливостей загоєння опікових ран при застосуванні хітозанових мембран на підставі вивчення особливостей процесу репаративної регенерації тканин в зоні термічного пошкодження шкіри у тварин молодого віку.

Матеріали та методи досліджень.

Експеримент був поставлений на 50 білих безпорідних щурах-самцях 3-х місячного віку з масою тіла 180-200 г. Утримання тварин та експерименти відбувалося згідно з вимогами Європейської конвенції по

захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.), директиви Ради Європейського економічного товариства по захисту хребетних тварин (Страсбург, 24.11.1986), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes. Лабораторні тварини були поділені на контрольну та експериментальну серії, по 25 тварин в кожній. Щурам обох груп моделювався опік III ступеня. Під дією ін'єкційного кетамінового щурам на попередньо поголену шкіру в міжлопатковій ділянці контактено впливали жалом паяльника, що закінчується металевою пластинкою з площею 1,76 см² (діаметр 1,5 см). Температура пластини складала 250 °С, а експозиція впливу - 2 секунди після згасання індикатору, що сигналізує про нагрів паяльника до потрібної температури. Тваринам експериментальної серії для місцевого лікування ран використовували інноваційні хітозанові покриття, в контрольній серії заживлення рани відбувалося з використанням стерильних марлевих пов'язок. Матеріал для покриття дефекту на основі хітозану отримували в Інституті прикладної фізики НАН України.

Проводилися гістологічні та цитологічні дослідження, забір матеріалу для яких відбувався на 1, 3, 7, 14 та 21 добу після нанесення травми, що відповідає термінам, які характеризують основні етапи регенераційних процесів шкіри. Для цитологічного дослідження проводився забір матеріалу з раневої поверхні за методом «мазків-відбитків» [5, 6], а також зіскоб за методом «поверхневої біопсії» [3] в залежності від фази перебігу ранового процесу. В кожному терміні дослідження виготовлялося по 3-5 препаратів з однієї і тієї ж ділянки раневої поверхні після видалення кірочок та некротичних тканин з поверхні рани за допомогою марлевого тампону, змоченого у стерильному фізіологічному розчині. Отримані препарати висушувались на повітрі та фіксувались в метиловому спирті та фарбувались за Романовським-Гімзою та гематоксилін-еозином [2]. Готові препарати досліджувались з метою встановлення характеру цитогам.

Проводилося вивчення цитограми за наступними показниками: кількість лейкоцитів у полі зору, клітинний склад у відсотках: лейкоцитів (нейтрофіли, лімфоцити, моноцити, еозинофіли), гістіоцитів (макрофаги, полібласти) та клітин сполучної ткани (фібробласти), а також ендотеліоцитів та епітеліоцитів. При цитологічному дослідженні мазків враховувався також кількісний склад мікрофлори, характер фагоцитозу, наявність та кількісний склад лейкоцитів з ознаками дегенерації. Гістологічні препарати виготовлялися з ділянки раневого дефекту з прилеглою шкірою та підлеглими тканинами розміром 1 см² та товщиною до 5 мм. Отримані зразки фіксувалися в 10% розчині нейтрального формаліну (рН 7,2). Після 24-годинної експозиції у розчині формаліну та наступного проведення шматочків шкіри в етиловому спирті висхідної концентрації біоптат заливався в парафінові блоки. Виготовлялися парафінові серійні зрізи товщиною 5-7 мкм та після депарафінізації проводилося забарвлення препаратів гематоксилін-еозином [4]. Вивчення регенераторних процесів опікових ран проводилося за наступним комплексом морфологічних показників: характер пошкодження епідерміса та дерми; терміни і особливості очищення рани; наявність та ступінь інтенсивності запального процесу, розладів кровообігу; наявність та якісний склад клітинного інфільтрату; термінів і ступеню розвитку розвитку сполучнотканинного і епітеліального регенератів, рівня їх диференціювання та поширення; наявність або відсутність синхронності регенераторних процесів у системі епітелій - сполучна тканина; особливості процесу ангіонеогенезу; наявність або відсутність морфологічних проявів патологічної регенерації епітелію і сполучної тканини (гіперплазія, рубцювання). Гістологічні та цитологічні препарати вивчалися за допомогою світлового мікроскопа з імерсійною системою "Micromed XS-4130" (об'єктиви ×60, ×90, окуляри ×16) з відеокамерою "Micromed MA 88-300" з використанням програми «SEO – Image Lab – 2.0».

Для статистичної обробки отриманих результатів досліджень використовували t-критерій Стьюдента, відмінності середніх вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95% ($p \leq 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення.

Для патогенезу раневого процесу притаманна фазність запалення з нерозривністю переходу однієї фази в іншу, кожна з яких характеризується певними функціональними і морфологічними змінами, що відбуваються в рані та оточуючих тканинах [12, 17]. Різні типи цитограм раневої поверхні характеризуються особливою цитологічною картиною, зміна показників якої обумовлює та характеризує процеси, що відбуваються під час протікання певної фази раневого загоєння.

Термічна травма шкіри отримана запропонованим нами способом, супроводжувалася розвитком сухого коагуляційного некрозу без загибелі поверхневого шару м'язів. При цьому відбулося значне ушкодження колагенових волокон і утворення струпа на поверхні раневого дефекту. Характерна вузька зона гіперемії навколо осередку ураження, набряк порівняно невеликий.

При дослідженні гістологічних препаратів на 1 добу експерименту в обох серіях тварин в зоні термічного впливу були виявлені зміни, характерні для опіку ІІІБ ступеня: шкіра в ділянках коагуляційного некрозу повністю втратила свою структуру, колагенові волокна фрагментовані, розташовані у вигляді конгломератів, які забарвлюються в інтенсивно фіолетовий колір гематоксиліном, сальні залози і волосяні фолікули зруйновані, представлені гомогенними, безструктурними, також інтенсивно забарвленими гематоксиліном масами, в дермі під базальною мембраною виявлялася інфільтрація поліморфно-ядерними нейтрофілами. В товщі шкіри та в підшкірній жировій клітковині, кровоносні судини

розширені, переповнені еритроцитами, іноді закупорені тромбами, зрідка зустрічаються крововиливи. Колагенові волокна шкіри і підшкірної клітковини в прилеглих до вогнища ураження ділянках розпушені з незначним фрагментуванням на волокна, просякнуті серозною рідиною, їх властивості до сприйняття барвників збережені. При дослідженні цитограм раневої поверхні щурів контрольної серії на 1 добу спостерігалось співвідношення клітинних елементів, яке відповідає некротичному типу цитограми з переважанням детриту, залишків зруйнованих нейтрофілів та значної кількості нефагоцитованої мікрофлори. Так, кількість лейкоцитів склала $101,1 \pm 2,54$, при цьому частка нейтрофільних гранулоцитів значно переважала серед інших клітинних елементів і складала $94,5 \pm 0,55\%$. При використанні хітозанових плівок кількість лейкоцитів у полі зору зменшувалась до $83 \pm 0,65$, а частка нейтрофільних гранулоцитів зменшилась на $6,6\%$ ($p \leq 0,05$), що свідчить про зниження запальної реакції в ділянці ранового дефекту. Наростання кількості лімфоцитів, а також частки клітин моноцитарно-макрофагального ряду обумовлювало пришвидшення термінів очищення рани на тлі зменшення ознак некротичного типу цитограми в бік дегенеративно-запального типу.

На 3 добу після моделювання опіку рана була покрита товстим струпом з некротизованих елементів епідермісу та дерми, бурокоричневого кольору, спаяним з підлеглими тканинами. Краї рани у тварин контрольної групи були потовщеними і піднесеними над струпом, при натисканні з-під струпа видавлювався серозно-гнійний ексудат. В біопсійному матеріалі 3 доби експерименту спостерігалась гіперемія судин, посилення ексудації, і в результаті цього, набряк дерми, як прояв першої фази загоєння. В цитограмах цього терміну дослідження кількість лейкоцитів у полі зору знижувалася до $91 \pm 0,38$, також зменшувався відсоток нейтрофілів до $79,3 \pm 0,49\%$. Відсоток лімфоцитів суттєво не змінювався, в той час як кількість клітин макрофагально-моноцитарного

ряду збільшувався. Наявність лейкоцитів з ознаками дегенерації та деструкції у вигляді каріопікнозу та каріорексису на додаток до вище перелічених показників дозволяє віднести цитограми цього терміну дослідження до дегенеративно-запального типу. Застосування хітозанових плівок призводило до ослаблення ексудативної фази запалення, що макроскопічно проявлялося значно меншою піднесеністю країв рани та відсутністю серозно-гнійного ексудату під сформованим струпом, який був помітніше тоншим. Гістологічно у біоптатах на 3 добу після корекції опіку хітозаном спостерігався менше виражений набряк тканин шкіри, клітинної інфільтрації та мікроциркуляторних змін в ділянці термічного ураження, що було обумовлене позитивним впливом хітозану на запальну реакцію в ділянці ушкодження [21]. Цитологічно на фоні зниження рівня лейкоцитів та відсотку нейтрофілів в клітинному складі цитограми спостерігалось достовірне збільшення частки моноцитів на 41,6% ($p \leq 0,05$), а макрофагів на 24,4% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем. При цьому кількість фібробластів достовірно зросла на 52,6% ($p \leq 0,05$) (рис. 1). Вищеперелічені показники дозволяють характеризувати цитограми цього терміну дослідження як перехідні від запального до запально-регенераторного типу.

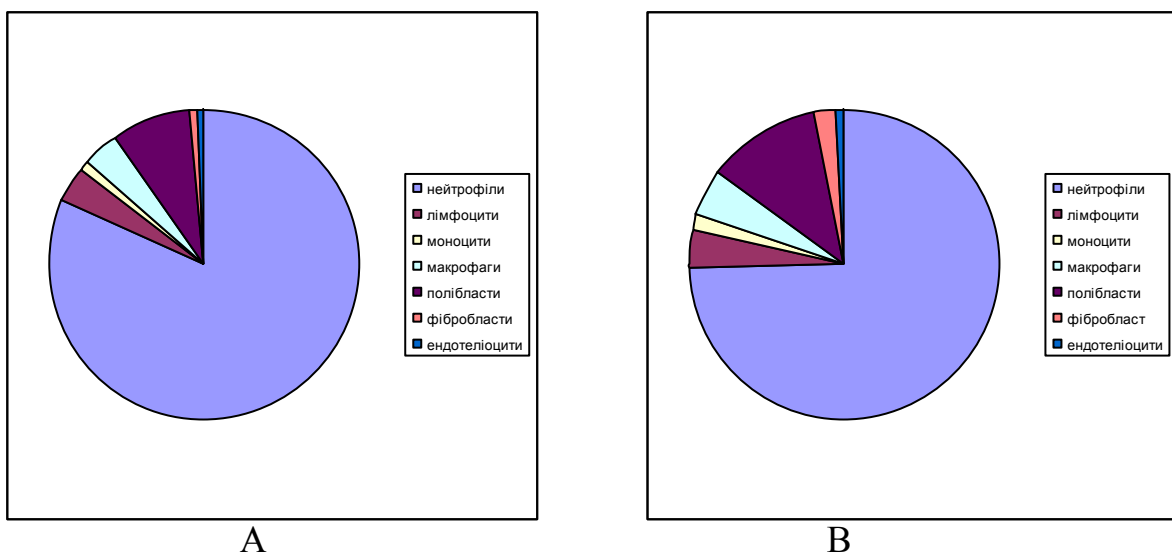
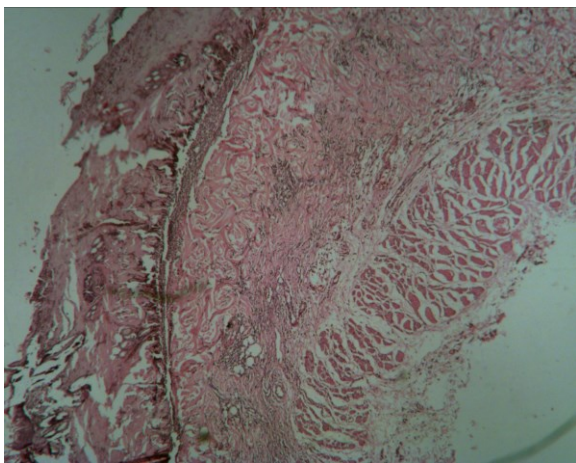


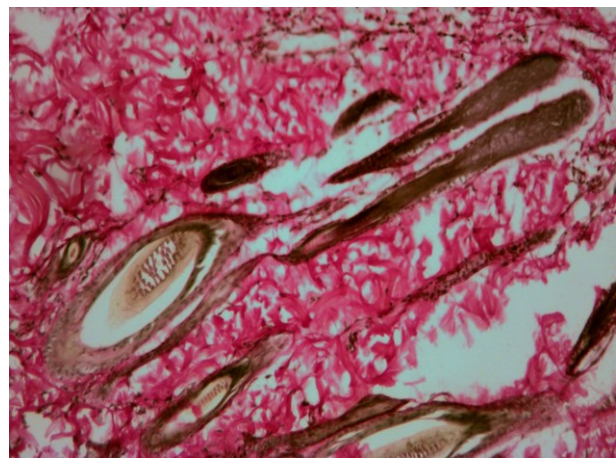
Рис. 1 Відсотковий вміст клітин поверхні опікової рани на 3 спостереження в контролі (А) та експерименті (В)

На 7 добу експерименту опікова поверхня залишалася покритою струпом з підритими краями. Гістологічно зберігалася значна інфільтрація поліморфно-ядерними лейкоцитами з невеликою домішкою лімфоцитів, макрофагальних елементів та фібробластів, кількість яких помітно збільшилась порівняно з попереднім терміном спостереження. У тканинах дна рани зберігалися набряк, застійне повнокров'я судин мікроциркуляторного русла, з'являлися макрофагально-гістіоцитарні елементи. Грануляційна тканина росла у вигляді коротких тонких тяжів з проліферуючих фібробластів веретеноподібної форми, які супроводжувалися капілярами, у напрямку від країв рани до її центру. У базальних шарах епідермісу спостерігалися ознаки проліферативної активності. Цитограми цього терміну дослідження відрізнялися значним зниженням порівно з попереднім терміном кількості лейкоцитів та частки нейтрофільних гранулоцитів до $63,09 \pm 0,49\%$. Кількість моноцитів та макрофагів зростала, що характеризує позитивну динаміку очищення рани. Збільшення відсотку фібробластів в цитограмах свідчило про активізацію процесів формування грануляційної тканини та посилення процесів регенерації, що підтверджувалося також і появою ендотеліоцитів. Зміна показників цитограми в бік моноцитарно-макрофагального компоненту дозволяє визначити цитограму цього терміну дослідження як перехідну від запального до запально-регенеративного типу, що відображає зміну фаз процесу ранового загоєння з фази запалення на фазу регенерації. Біоптат шкіри з хітозановим покриттям після 7 діб спостереження характеризувався значно меншим набряком епідермісу, дерми та підшкірної клітковини. Тканинний детрит та некротичні тканини обмежувалися запальною нейтрофільно-лімфоцитарною інфільтрацією з

помітним переважанням макрофаго-гістіоцитарного компоненту. Розвиток грануляційної тканини у ділянках пошкодження набував більшого розвитку, при чому цей процес відбувається рівномірно по всьому вогнищу ураження на відміну від контрольної серії, в біоптатах якої грануляції утворювались переважно на кордоні осередку ураження, а в центрі зберігалася зона коагуляційного некрозу (рис. 2). Цитограми 7 доби дослідження відрізнялися від контрольної серії достовірним зменшенням частки нейтрофілів на 26,1% ($p \leq 0,05$) як показник пришвидшення динаміки очищення ран. Достовірне зростання кількості фібробластів та кількості ендотеліоцитів свідчить про активізацію процесів регенерації, що пояснюється стимуляцією міграції фібробластів та синтеза глікозаміногліканів під впливом хітозану [20]. Такі зміни цитологічної картини та збільшення рівня макрофагів визначає більш швидкий перехід до регенераторно-запального типу цитограм.



А



В

Рис. 2 Біоптати шкіри щурів контрольної (А) та експериментальної (В) серій на 7 добу після моделювання опіку. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: $\times 40$ (А) та $\times 100$ (В).

На 14 добу експерименту спостерігалася часткова епітелізація ранової поверхні. В центральних ділянках рани зберігався сформований струп. Біоптати шкіри цього терміну спостереження характеризувалися

зменшенням набряку та згасанням запальної реакції з переважанням лімфоцитарно-гістіоцитарного компонента на тлі наростання кількості фібробластів, ендотеліоцитів та епітеліоцитів. Зберігалася висока проліферативна активність базальних шарів епідермісу. Також спостерігався розвиток сполучної тканини як у дермі, так і в підшкірній жировій клітковині. На 14 добу дослідження зміни в клітинному складі характеризувалися переважанням макрофагів, полібластів та фібробластів, що свідчить про збереження активності регенераційних процесів в рані, що в комплексі з іншими показниками свідчить про зміну фаз ранового процесу від запалення до регенерації на підставі запально-регенераторного типу цитогам. Через 14 діб після опіку шкіри в експериментальній серії спостерігалися ознаки епітелізації ранового дефекту, відбулась повна десквамація струпу. Набряк практично був відсутній, лейкоцитарної інфільтрації майже не спостерігалося. Грануляційна та сполучна тканина мали більше поширення відносно відповідного терміну дослідження контрольної серії. Грануляційна тканина складалася з великої кількості новоутворених судинних петель, орієнтованих перпендикулярно до поверхні рани, і численних тяжів фібробластів, серед яких зустрічалися клітини з мітозами. Тонкостінні судини були розташовані рівномірно по всій грануляційній тканині, практично однакового діаметру. Розвиток сполучної тканини відмічався в усіх шарах дерми, підшкірній жировій клітковині. З ділянок неушкодженої шкіри рухався новоутворений пласт епітелію, що поступово закривав ранову поверхню, формуючи характерні пласти світлих клітин з широкою цитоплазмою. З 14 доби виявлялися достовірні зміни показників цитогам з переважанням клітин макрофагально-моноцитарного ряду, полібластів та фібробластів, що відповідає дослідженням Voucard et al., які показали здатність хітозану стимулювати ріст судин та міграцію макрофагів і фібробластів у зону травми [9]. Так, кількість моноцитів зросла на 25,0%

($p \leq 0,05$) порівняно з контрольною серією. Зріс також і відсоток полібластів на 10,9% ($p \leq 0,05$), а фібробластів на 27,9% ($p \leq 0,05$), що свідчить про активізацію процесів регенерації порівняно з контрольною серією як показник регенераторного типу цитограм. Збільшення кількості епітеліоцитів та достовірне зростання частки ендотеліоцитів на 32,1% ($p \leq 0,05$), свідчить про перехід процесу загоєння в фазу епілізації та реорганізації рубця (рис. 3).

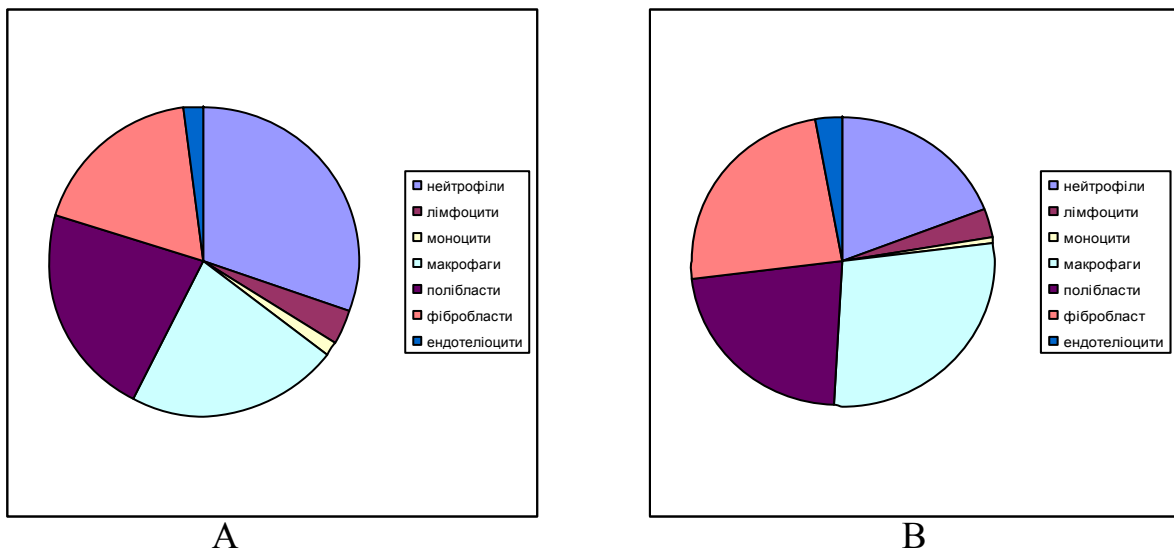
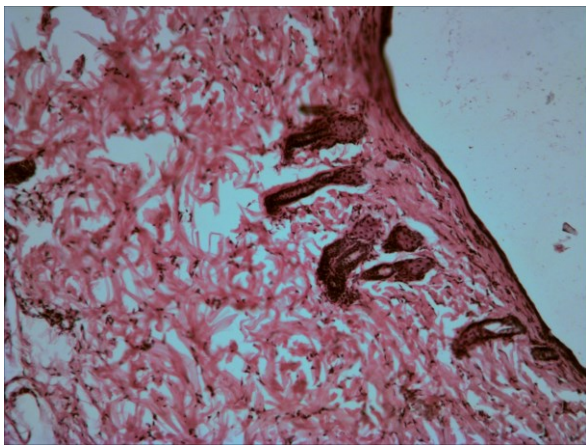


Рис. 3 Відсотковий вміст клітин поверхні опікової рани на 14 добу спостереження в контролі (А) та експерименті (В)

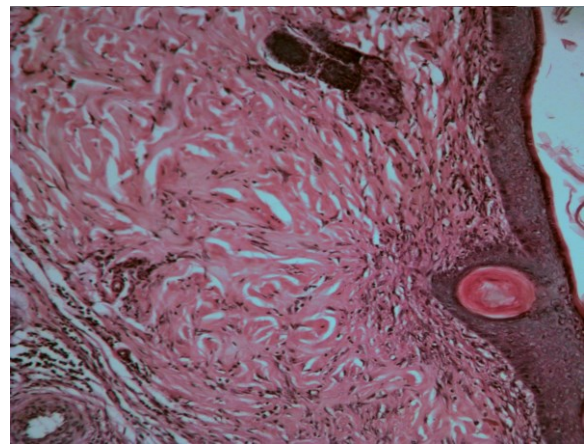
Дослідження біоптатів 21 доби виявило відсутність ознак набряку. Серед клітинного компоненту переважали клітини гістіоцитарного ряду, збільшилась кількість сполучної тканини та її грубоволокнистого компоненту. Виявлялися ознаки реорганізації новоутвореної тканини та формування рубця, при цьому спостерігається порушення структури за рахунок рубцевих змін. Необхідно відмітити також наявність порушень проліферації, диференціювання та ороговіння епідермісу. В подальшому відбувалося збільшення кількості ендотеліоцитів і на 21 добу спостереження їх кількість становила $10,2 \pm 0,02\%$, що свідчить про активізацію процесів новоутворення кровоносних судин. Зростання частки фібробластів на 52,6% ($p \leq 0,05$) з їх наступною трансформацією в

фіброцити обумовлювало процеси утворення колагену та основної речовини сполучної тканини [22]. Збільшувалася також і кількість епітеліоцитів, що забезпечувало повну епітелізацію поверхні ранового дефекту на цьому терміні дослідження.

На 21 день спостерігалася повна епітелізація ранового дефекту і в експериментальній серії, визначалися зачатки сальних залоз та волосяних фолікулів. Кількість сполучної тканини в біоптаті шкіри була значною, проте грубоволокнистий компонент був менш виражений порівняно з контрольною серією (рис. 4). Деформація і порушення структури за рахунок рубцевих змін шкіри були незначні, формування сполучної тканини відбувалось рівномірно по всьому регенерату, в той час як в контрольній серії ступінь зрілості сполучної тканини зменшувалась від поверхні рани до її дна, що обумовлене здатністю матеріалів на основі хітозану стимулювати процеси регенерації та перешкоджати утворенню шрамів [16, 14]. Цитологічна картина препаратів експериментальної серії характеризувалася зниженням виразності моноцитарно-макрофагальної реакції та значним зростанням частки фібробластів та ендотеліоцитів.



А



В

Рис. 4 Біоптатати шкіри щурів контрольної (А) та експериментальної (В) серій на 21 добу після моделювання опіку. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: $\times 100$ (А, В).

Дослідження цитограм раневої поверхні експериментальної серії тварин виявило більш швидкий перехід цитограм від некротичного типу до регенераторного в порівнянні з контрольною серією. На підставі результатів цитологічних досліджень, а також аналізу результатів гістологічних досліджень біоптатів можна стверджувати про прискорення динаміки фаз процесу раневого загоєння при використанні хітозанових плівок та прискорення заживлення рани в цілому [10].

Висновки

Таким чином, аналіз гістологічних препаратів та дослідження цитологічних препаратів з поверхні опікового дефекту показали, що застосування хітозанових плівок сприяє більш швидкому очищенню ран від гнійно-некротичних мас та відторгненню струпу, зменшує інтенсивність запальної реакції та розладів кровообігу, стимулює раннє утворення грануляцій, пришвидшує епітелізацію ранових дефектів. Стимулюючий вплив хітозану на макрофагальну реакцію, активація функцій фібробластів та оптимізація процесів ангіо- і фібрилогенезу сприяє швидшому дозріванню грануляційної тканини та її фіброзній трансформації, що в результаті приводить до прискорення репаративних процесів з повноцінним відновленням епідермісу, волокнистого компоненту дерми і появи дериватів шкіри.

Список використаної літератури:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов // М.: Медицина. – 2002. – 239 с.

2. Быков В.Л. Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей) / В.Л. Быков. – СПб.: СОТИС, 2003. – 520 с.
3. Камаев М.Ф. Инфицированная рана и ее лечение. 2-е изд. / М.Ф. Камаев // М.: Медицина, 1979. — 159 с.
4. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров // СПб.: СпецЛит. – 2010. – 95 с.
5. Покровская, М. П. Цитология раневого экссудата как показатель заживления ран / М. П. Покровская, М. С. Макаров // М.: Медгиз, 1942. – 44 с.
6. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко // 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина. – 1990. – 592 с.
7. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application / A.K. Azad, N. Sermsintham, S. Chandkrachang, W.F. Stevens // J Biomed Mater Res Appl Biomater. – 2004. – 69B: 21622.
8. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns / N. Boucard, C. Vitona, D. Agayb [et al.] // Biomaterials – 2007. – 28: 3478 – 88.
9. Development of N, O-(carboxymethyl) chitosan/collagenmatrixes as a wound dressing / R.N. Chen, G.M. Wang, C.H. Chen [et al.] // Biomacromolecules. – 2006. – 7: 1058 – 64.
10. Electrospun nano-fibre mats with antibacterial properties from quaternized chitosan and poly(vinyl alcohol) / M. Ignatova, K. Starbova, N. Markova [et al.] // Carbohydr Res. – 2006. – 341: 2098 – 107.
11. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix / K.S. Midwood, L.V. Williams, J.E. Schwarzbauer // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2004. – 36 (6): 1031–1037.

12. Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process / Masayuki, Ishihara, Kuniaki [et al.] // *Biomaterials*. – 2002. – V. 23(5). – P. 833–840
13. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends / Yu-Bey, Wu, Shu-Huei [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2004. – V. 57(7). – P. 435–440
14. Slack J. M. Regeneration research today / J. M. Slack // *Dev. Dyn.* – 2003. – P. 162–166
15. Studies on nerve affinity of chitosan-derived materials / G. HaiPeng, Z. Yinghui, L. Jianchun [et al.] // *Journal of Biomedical Material Research*. – 2000. – V. 52(2). – P. 285–295
16. The cellular, biochemical, and mechanical phases of wound healing / Pollock, E. Raphael, F. Charles [et al.] // *Schwartz's Principles of Surgery, Ninth Edition*. McGraw-Hill Professional. – 2009.
17. Vats A. Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications / A.Vats // *Clin. Otolaryngol. Allied Sci.* – 2003. – P. 165–172
18. Water absorbing and antibacterial properties of N-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene nonwoven fabric and its application on wound healing enhancement / C.C. Wang, C.H. Su, C.C. Chen // *J Biomed Mater Res*. – 2008. – 84A: 1006–17.
19. Fabrication, structure, and properties of chitin whisker-reinforced alginate nanocomposite fibers / A. Watthanaphanit, P. Supaphol, H. Tamura [et al.] // *Appl Polym Sci*. – 2008. – 110: 890–9.
20. Inducible enzymes in the inflammatory response / D.A. Willoughby, A. Tomlinson, editors. // Basel, CH: Birkhauser Verlag. – 1999.
21. Metalloproteinases as targets for anti-Inflammatory drugs / M.K. Bottomley, D. Bradshaw, J.S. Nixon, editors. // Basel: Birkhauser. – 1999.

22. Identification of fibrocytes in postburn hypertrophic scar / L. Yang, P. G. Scott , C. Dodd [et al.] // Wound Repair Regen. – 2005 – 13, 398–404.

Корнієнко, В.В. Особливості регенеративних процесів в опіковій рані тварин молодого віку при використанні хітозанових плівок [Текст] / В.В Корнієнко // Світ медицини та біології. - 2014. - №4 (46). – С. 107-113.