

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**КОРНІЄНКО ВІКТОРІЯ ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК 616.5-001.17-003.93-085-092.9(043.3)

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІЇ ШКІРИ  
ПРИ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ХІТОЗАНОВИХ ПЛІВОК  
У ВІКОВОМУ АСПЕКТІ**

**14.03.01 – нормальна анатомія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук**



**Суми – 2016**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, доцент

**Погорєлов Максим Володимирович,**

Сумський державний університет МОН України, (м. Суми),  
завідувач кафедри гігієни та екології з курсом мікробіології,  
вірусології та імунології.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

**Твердохліб Ігор Володимирович,**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»  
(м. Дніпропетровськ), завідувач кафедри гістології;

доктор медичних наук, професор

**Федонюк Лариса Ярославівна,**

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»  
(м. Тернопіль), завідувач кафедри медичної біології.

Захист відбудеться «27» травня 2016 р. об 11:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31).

Із дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «22» квітня 2016 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат медичних наук

О. С. Погорєлова



## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Виконуючи захисну функцію, зовнішній покрив тіла зазнає впливу факторів довкілля, що можуть призводити до виникнення ушкоджень різного генезу. Одним із найпоширеніших видів травм, що спричинюють пошкодження шкірного покриву, є термічні. Опіки становлять глобальну проблему в галузі охорони здоров'я – у світі щорічно реєструється 195 тис. випадків смерті від цього виду травм. За даними Європейського регіонального бюро ВООЗ, питома вага опіків становить від 5,6 % до 10 %, посідаючи третє місце серед усіх видів травм мирного часу. За даними Державної служби статистики України щорічно реєструється більше ніж 100 тис. випадків опікового травматизму.

Вивченням механізмів загоєння опікових ран займаються вчені різних країн. Проте залишаються відкритими питання, що стосуються комплексного вивчення морфофункціональних змін у ділянці термічної травми, особливостей перебігу запального процесу та його впливу на функціональний стан імунної системи, змін мікробіологічної картини опікової поверхні в динаміці розвитку ранового загоєння у віковому аспекті (Миронов В. И., Гилева И. И., 2009; Твердохліб І. В., Макаруч О. І., 2010; Зятковська О. Я., 2010; Кризина П. С., 2007; Шень Н. П., 2011; Крамар С. Б., Волков К. С., Котик А. О., 2014).

Сучасні принципи лікування термічних ушкоджень базуються на комплексному впливі на основні етапи регенераторного процесу в ділянці опікового ураження (Adam J. S., Dagum A. B., 2008; Фисталь Э. Я., 2009; Фісталь Н. М., 2009; Звягинцева Т. В., Гринь В. В., Наумова О. В., 2013; Нетюхайло Л. Г., 2014). Однак більшість існуючих на сьогодні медикаментів односпрямовано діють на певні ланки регенераторного процесу, викликають алергічні реакції та пригнічують ріст грануляційної тканини, не чинять антиоксидантної та імуностимулювальної дій, що негативно впливає на перебіг ранозагоєвального процесу, а широке використання лікарських препаратів з антибактеріальними властивостями сприяє виникненню полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів (Кризина П. С., 2011; Krishna S. Vyas, Henry C. Vasconez, 2014).

Останніми десятиріччями в практику впроваджені нові перев'язувальні матеріали, засоби та покриття як природного, так і синтетичного походження (Moustafa M. G. et al., 2009; Волков К. С., Чабан Г. П., Федонюк Л. Я., 2012; T. Hnin-Ei, Z. Mohd Hanif, N. Shiow-Fern, 2012). Зросла кількість досліджень щодо використання хітозану, який є похідним природного полімеру хітину, для створення засобів медичного призначення щодо лікування ушкоджень шкіри (Harish Prashanth K. V., Tharanathan R. N., 2007; Honarkar H., Barikani M., 2009). При його використанні необхідно відзначити такі позитивні моменти, як біосумісність, здатність до біодеградації з утворенням нешкідливих мономерів (Francesco A., Tzanov T., 2011), відсутність місцевої подразнювальної, алергенної та токсичної дій, атравматичність (Chen R. N. et al., 2006; Watthanaphanit A. et al., 2008). Хітозанові плівки добре моделюються на різних ділянках тіла, забезпечують нормальний парообмін у рані, сорбують надлишок ексудату (Wang C. C. et al., 2008), виявляють



пролонговану антимікробну та знеболювальну дії (Shin-Yeu Ong et al., 2008), створюють вологе середовище, оптимальне для міграції фібробластів і макрофагів, що продукують фактори росту, сприяючи тим самим прискоренню ангіогенезу, фібринолізу та процесу ранового загоєння, а також запобігають утворенню рубців (Boucard N. et al., 2007). Багатьма дослідниками вивчався як стимулювальний вплив мембран на основі хітозану на процес регенерації *in vivo*, так і здатність хітозанових матеріалів обумовлювати проліферацію та життєздатність клітин *in vitro* (Rodrigues A. P., Genari S. C., Paulo N. M., 2010).

Висока частота термічних уражень у побуті та виробництві, поширеність їх серед дитячого населення, тяжкий та тривалий перебіг опікової травми, недостатня ефективність існуючих методів терапії, великий відсоток ускладнень та інвалідизації постраждалих обумовлюють актуальність проблеми термічних уражень та визначають необхідність подальшого пошуку нових і вдосконалення відомих засобів і методів лікування, які б стимулювали репаративні процеси в ранах.

Актуальним залишається питання впливу хітозанових матеріалів на перебіг репаративної регенерації ран під час їх застосування для лікування опікових ушкоджень у дітей та осіб похилого віку, оскільки динаміка ліквідації ушкоджень саме цих груп обумовлена віковими особливостями процесу загоєння. Поглиблене вивчення механізмів дії цих засобів, зокрема із застосуванням морфологічних методів дослідження, дозволить розширити уявлення про можливі шляхи оптимізації лікування опікових ушкоджень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету та є складовою частиною науково-дослідної теми Сумського державного університету «Медико-біологічні та доклінічні дослідження нових біоматеріалів медичного призначення на основі хітозану» (номер держреєстрації 0115U001712). Автор дисертації виконувала дослідження в рамках гранту ДФФД № Ф44/445-2012 «Розроблення та клінічні дослідження нанокompозитних матеріалів для медицини».

**Мета і завдання дослідження.** Метою дослідження було вивчення морфофункціональних особливостей ділянки шкіри після опікової травми та використання для загоєння рани хітозанових плівок у віковому аспекті.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. На експериментальній моделі опікової рани вивчити закономірності репаративної регенерації шкіри тварин різних вікових груп контрольної серії.
2. З'ясувати планіметричні показники стану ранової поверхні в динаміці процесу загоєння ділянки опікового ушкодження шкіри у тварин різних вікових груп при застосуванні хітозанових плівок.
3. Оцінити клітинний склад ранової поверхні шкіри при застосуванні хітозанового покриття у тварин експериментальної серії у віковому аспекті.
4. Дослідити структурні зміни тканин шкіри у зоні її термічного пошкодження у тварин різних вікових груп при використанні хітозанових мембран.
5. Установити взаємозв'язок між морфофункціональними показниками репаративної регенерації шкіри в динаміці лікування опікової рани.



*Об'єкт дослідження* – морфогенез тканин опікової рани шкіри.

*Предмет дослідження* – морфофункціональні особливості регенерації шкіри при опіковій травмі та застосування хітозанових плівок у віковому аспекті.

*Методи дослідження*: планіметрія ранової поверхні, цитологічне дослідження, гістологічне дослідження, морфометричне дослідження, статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше за допомогою сучасних методів дослідження вивчені особливості репаративної регенерації опікової рани шкіри з урахуванням фаз ранового загоєння у контрольних тварин різних вікових груп. Установлено, що з віком відбувається порушення клітинного співвідношення в ділянці опікової рани на початкових стадіях регенерації, це призводить до уповільнення формування тканин та епітелізації рани.

Уперше за допомогою комплексу цитологічних, планіметричних та гістоморфометричних досліджень установлені основні закономірності перебігу репаративної регенерації опікових ран за умов застосування хітозанових плівок. Виявлений стимулювальний ефект хітозану на клітини, які забезпечують очищення рани від детриту, й на клітини фібробластичного ряду, що приводить до швидкого формування повноцінної сполучної тканини на місці травми. Доведено, що використання хітозанових плівок обумовлює синхронізацію процесів утворення та дозрівання грануляційної тканини з подальшою епітелізацією рани. Уперше встановлено, що використання хітозану сприяє повноцінному відновленню будови шкіри без формування рубцевої тканини. Уперше визначені відмінності морфофункціонального стану шкіри у тварин різних вікових груп під час застосування хітозанового покриття, що полягають у зменшенні чутливості ефекторних клітин до дії хітозану зі збільшенням віку тварин та, як наслідок, – в уповільненні процесів регенерації.

**Практичне значення одержаних результатів.** Проведене дослідження дозволило визначити комплекс вікових особливостей морфофункціонального стану шкіри тварин після опікової травми, що може бути використане як морфологічне підґрунтя під час дослідження процесів регенерації ран у хірургії, комбустіології, дитячій хірургії, медицині невідкладних станів і військовій медицині. Визначення особливостей процесів регенерації рани при застосуванні інноваційного хітозанового покриття може бути використане для його подальшого дослідження з метою впровадження у практичну охорону здоров'я як засобу медичного призначення.

Результати експериментальних досліджень упроваджені в навчальний процес на кафедрах: анатомії людини Запорізького державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Буковинського державного медичного університету; нормальної анатомії людини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОН України»; гістології, цитології та ембріології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; гістології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», та в наукову



роботу лабораторії морфології сполучної тканини ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних джерел за темою наукового дослідження, визначено мету та завдання дослідження. Автором відтворено модель опікової рани у лабораторних тварин, проведено постановку експерименту, забір матеріалу, здійснено аналіз та статистичну обробку одержаних результатів, оформлення їх у вигляді графіків і таблиць, сформульовано висновки, підготовлено наукові матеріали до публікацій та виступів на конференціях. Морфологічні, морфометричні, планіметричні та цитологічні дослідження проведено особисто.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертації повідомлені та обговорені на Міжнародній науковій конференції студентів та молодих учених, присвяченій 20-річчю медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 18–19 квітня 2013 р.), на Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини» (Суми, 10–12 квітня 2013 р.), на Міжнародній науково-практичній конференції «Морфогенез органів в умовах дії несприятливих чинників» (Алушта, 20–23 травня 2013 р.), на Міжнародній науковій конференції студентів та молодих учених, присвяченій 20-річчю медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 17–18 квітня 2014 р.), на II Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 16–18 квітня 2014 р.), на 79-й Всеросійській науковій конференції студентів і молодих учених за міжнародної участі «Молодежная наука и современность» (Курськ, Росія, 16–17 квітня 2014 р.), на науково-практичній конференції «Морфологічні дослідження – виклики сучасності» (23–24 квітня 2015 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, з яких 8 статей – у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України для медичних наук (зокрема 2 одноосібні, 1 – оглядового характеру), 1 – у науковому журналі, що індексується SciVerse Scopus, 1 патент на корисну модель, 6 праць – у матеріалах з'їздів, конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 199 сторінках машинописного тексту (основний текст роботи становить 151 сторінку). Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 2-х розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів дослідження», висновків, списку використаних джерел, (269 джерел, з яких 78 надруковані кирилицею, 191 – латиницею), додатків, розміщених на 18 сторінках. Дисертація ілюстрована 123 рисунками (55 фотографій, 67 діаграм, 1 схема) та 10 таблицями.



## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Вивчення особливостей регенераційних процесів шкіри при опіковій травмі та застосуванні хітозанових плівок проводилося на 180 білих лабораторних щурах-самцях 3 вікових груп: молодого (3 місяці), зрілого (9 місяців) та старечого (22 місяці) віку з початковою масою тіла відповідно 125–140, 185–200 та 265–350 г.

Утримання тварин та експерименти відбувалися згідно з «Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), Директивою Європейського парламенту та Ради ЄС від 22.09.2010 року, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Виконання і методичне забезпечення експериментальних досліджень здійснювалися відповідно до вимог сучасних етичних норм та з дозволу комісії з питань біоетики Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 4 від 15 квітня 2013 р.).

Згідно з метою та завданнями дослідження лабораторні тварини були поділені на контрольну (90 тварин) та експериментальну (90 тварин) серії, в кожній з яких виділено по 3 групи з 30 тваринами відповідного віку. Щурам експериментальної та контрольної серій проводили моделювання опікової рани ІІб ступеня в міжлопатковій ділянці площею  $1,76 \text{ см}^2$  згідно з методикою експериментальної моделі опікової травми (патент на корисну модель № 89985 «Спосіб моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам» від 12.05.2014 р.).

Тваринам експериментальної серії для місцевого лікування ран використовували інноваційні хітозанові покриття діаметром  $(20 \pm 0,1)$  мм, які попередньо стерилізували у 70 % етиловому спирті впродовж 1 години за кімнатної температури. У контрольній серії загоєння рани відбувалося з використанням стерильних марлевих пов'язок. Заміну хітозанових плівок і марлевих пов'язок проводили щоденно після стандартної обробки рани, починаючи з 1-ї доби після моделювання опіку. Лабораторних щурів щодня оглядали, зазначаючи їх загальний стан, активність, стан рани та прилеглих тканин.

Тварин виводили з експерименту на 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу доби після завдання травми шляхом передозування наркозу (70 мг на 1 кг маси тварини внутрішньом'язово), що відповідає термінам, які характеризують основні етапи регенераційних процесів шкіри. Забір матеріалу для досліджень та фотодокументування проводили в усі зазначені терміни.

Матеріал для покриття дефекту одержували в Інституті прикладної фізики НАН України. Для отримання гелю хітозану використовували хітозан (ЗАТ «Біопрогрес», Росія) з молекулярною масою 700 кДа та ступенем деацетилювання 87 %, одержаний із панцирів камчатських крабів без будь-яких домішок. Готували 2 % розчин хітозану в 0,5 % оцтовій кислоті впродовж 24 год



та формували тонку помірно розчинну у воді плівку на полімерній підкладці впродовж 10 хвилин.

Для вивчення морфофункціональних особливостей регенерації шкіри при опіковій травмі використовували планіметричний, цитологічний, гістологічний, морфометричний методи дослідження та статистичну обробку матеріалу.

*Планіметричний метод дослідження.* Для проведення планіметрії проводили документування поверхні дефекту фотоапаратом Cannon 550 DEOS кожної доби. Планіметрію ранової поверхні проводили за допомогою програми «SEO Image lab 2.0» (Суми, Україна) з урахуванням загальної площі дефекту в см<sup>2</sup>, відносної площі некрозу, грануляцій та епітелізації – у відсотках. Для оцінювання стану ранової поверхні вивчали терміни очищення рани від гнійно-некротичних мас, час появи грануляцій та початку крайової епітелізації, а також терміни повної епітелізації поверхні рани. Оцінювання швидкості загоєння ранового дефекту проводили з використанням таких показників: середньої швидкості зменшення ранової поверхні, см<sup>2</sup> за 1 добу (СерШЗРП), та зменшення площі рани, % за 1 добу (ЗПР).

*Цитологічне дослідження ранової поверхні.* Для цитологічного дослідження проводили забір матеріалу з ранової поверхні методом «мазків-відбитків», а також методом «поверхневої біопсії» залежно від фази перебігу ранового процесу. Одержаний матеріал висушували на повітрі, препарати фіксували сумішню Никифорова з подальшим фарбуванням за Романовським–Гімзою. Препарати досліджували у світловому мікроскопі «Olympus BH 2» з цифровою відеокамерою DCM 510 5,0 pixels.

Підрахунок цитогам проводили на 200 клітинах. Вивчення одержаних цитогам проводили за такими показниками: кількістю лейкоцитів у полі зору, клітинним складом у відсотках, а також кількісним складом мікрофлори, характером фагоцитозу, наявністю та кількісним складом лейкоцитів з ознаками дегенерації та деструкції.

*Гістологічне дослідження.* Для приготування гістологічних препаратів здійснювали забір матеріалу з ділянки ранового дефекту з прилеглою шкірою та підлеглими тканинами розміром 1 см<sup>2</sup> та товщиною до 5 мм. Одержані зразки фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну (рН 7,2). Після 24-годинної експозиції у розчині формаліну та подальшого проведення шматочків шкіри в етиловому спирті висхідної концентрації біоптат заливали в парафінові блоки. Виготовляли серійні зрізи товщиною 5–7 мкм. Після депарафінізації препарати забарвлювали гематоксилін-еозином та вивчали у світловому мікроскопі «Olympus BH 2» з цифровою відеокамерою DCM 510 5,0 pixels.

*Морфометричне дослідження.* Морфометричне дослідження гістологічних препаратів проводили за допомогою програми «SEO Imagelab 2.0» (Суми, Україна) з урахуванням таких показників: відносної площі стромального набряку, відносної площі судин дерми, середнього діаметра судин дерми, відносної площі судин грануляційної тканини та середнього діаметра судин грануляційної тканини.

*Статистичні методи дослідження.* Одержані дані обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми IBM SPSS Statistics 21. Для



з'ясування типу розподілу даних використовували діаграми з кривою нормального розподілу (колокол Гаусса) і тест Колмогорова–Смирнова. Визначення ймовірності параметрів між різними вибірками проводили з використанням параметричних показників (порівняння середніх за допомогою t-теста). Для оцінювання ступеня взаємозв'язку (визначення сили та спрямованості зв'язку) між вибірками використовували коефіцієнт кореляції Пірсона ( $r$ ). Для виявлення розходжень у рівнях ознаки у віковому аспекті застосовували Н-тест загальної рангової послідовності значень Крускала–Уоліса. Дані двофакторного рангового дисперсійного аналізу Фрідмана застосовували для визначення значущості різниці показників у динаміці термінів спостереження. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки ( $M$ ), її дисперсії та похибки середньої величини ( $m$ ). Відмінності вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95 % ( $p \leq 0,05$ ).

**Результати дослідження та їх аналіз.** Планіметричні дослідження ранової поверхні вже на 3-тю добу спостереження виявили, що загальна площа дефекту була меншою в експериментальній серії тварин усіх вікових груп порівняно з контрольною. Достовірною ця різниця виявилася лише у тварин молодого – 21,47 % ( $p \leq 0,01$ ) та зрілого віку – 17,90 % ( $p \leq 0,01$ ). Також і грануляційна тканина була виявлена лише у тварин цих самих вікових періодів при застосуванні хітозану. Відносна площа некрозу також була меншою при застосуванні хітозанових плівок, але достовірною ця різниця була лише у тварин молодого віку й становила 8,19 % ( $p \leq 0,05$ ).

Ділянка епітелізації на 7-му добу спостереження була більшою на 25,93 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та на 29,82 % ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин зрілого віку експериментальної серії. У тварин старечого віку позитивні зрушення проявилися появою епітеліального регенерату вже в цьому терміні спостереження в експериментальній серії на відміну від контрольної серії, у тварин якої епітеліальна тканина не була виявлена.

Необхідно відзначити, що застосування хітозанових плівок обумовлювало достовірну різницю у відносній площі епітелізації контрольної та експериментальної серій на 14-ту добу експерименту лише у тварин зрілого і старечого віку – на 7,37 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 33,16 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. Проте у тварин молодого віку різниця загальної площі дефекту становила 30,65 % ( $p \leq 0,05$ ), зрілого – 41,46 % ( $p \leq 0,05$ ), старечого – 22,64 % ( $p \leq 0,05$ ), а площа некрозу була меншою у відповідних вікових періодах – на 17,18 % ( $p \leq 0,05$ ), 14,16 % ( $p \leq 0,05$ ) та 14,31 % ( $p \leq 0,05$ ).

На 21-шу добу у тварин молодого та зрілого віку рановий дефект не визначався ні в контрольній, ні в експериментальній серіях, а у тварин старечого віку площа ранового дефекту зменшилася до  $(0,36 \pm 0,12)$  см<sup>2</sup> у контрольній серії і не була зафіксована при застосуванні хітозану.

Дані двофакторного рангового дисперсійного аналізу засвідчили, що всі планіметричні показники мали значущість різниці з імовірністю похибки  $p < 0,01$  у динаміці термінів спостереження у тварин усіх вікових груп.



Аналіз Н-тесту загальної рангової послідовності значень виявив значущу різницю для загальної площі опікового дефекту у всіх термінах спостереження на відміну від площі некрозу, для якої на 1-шу добу такої різниці між тваринами різних вікових груп встановлено не було.

Під час дослідження стану ранової поверхні було виявлено, що очищення ран від некротичних тканин при застосуванні хітозанових мембран відбулося на  $(3,17 \pm 0,17)$  добу у тварин молодого, на  $(3,50 \pm 0,34)$  добу – у тварин зрілого та на  $(3,83 \pm 0,40)$  добу – у тварин старечого віку експериментальної серії, що на одну добу ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та старечого віку і на 0,83 доби ( $p \leq 0,05$ ) у щурів зрілого віку менше порівняно з контролем (рис. 1).

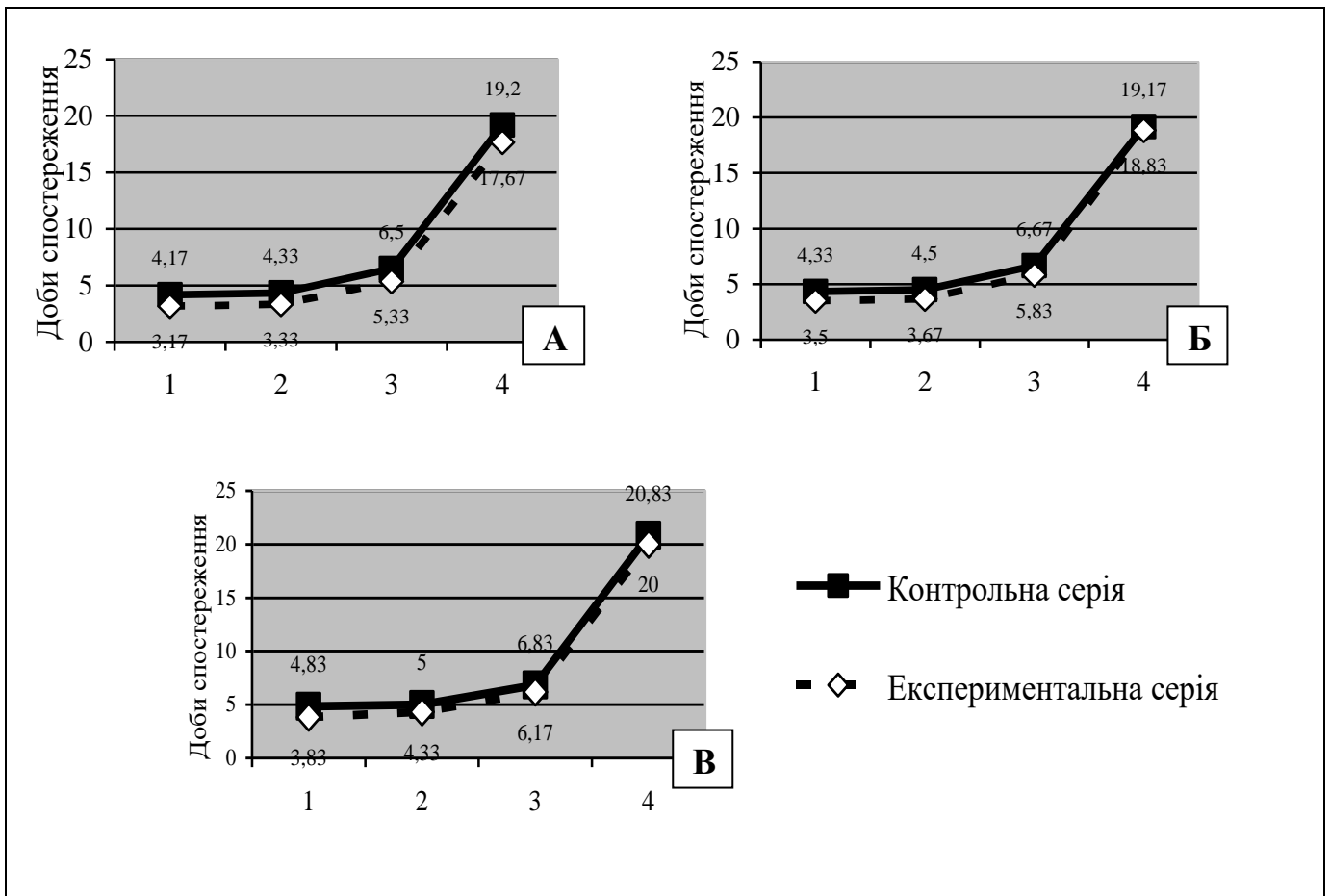


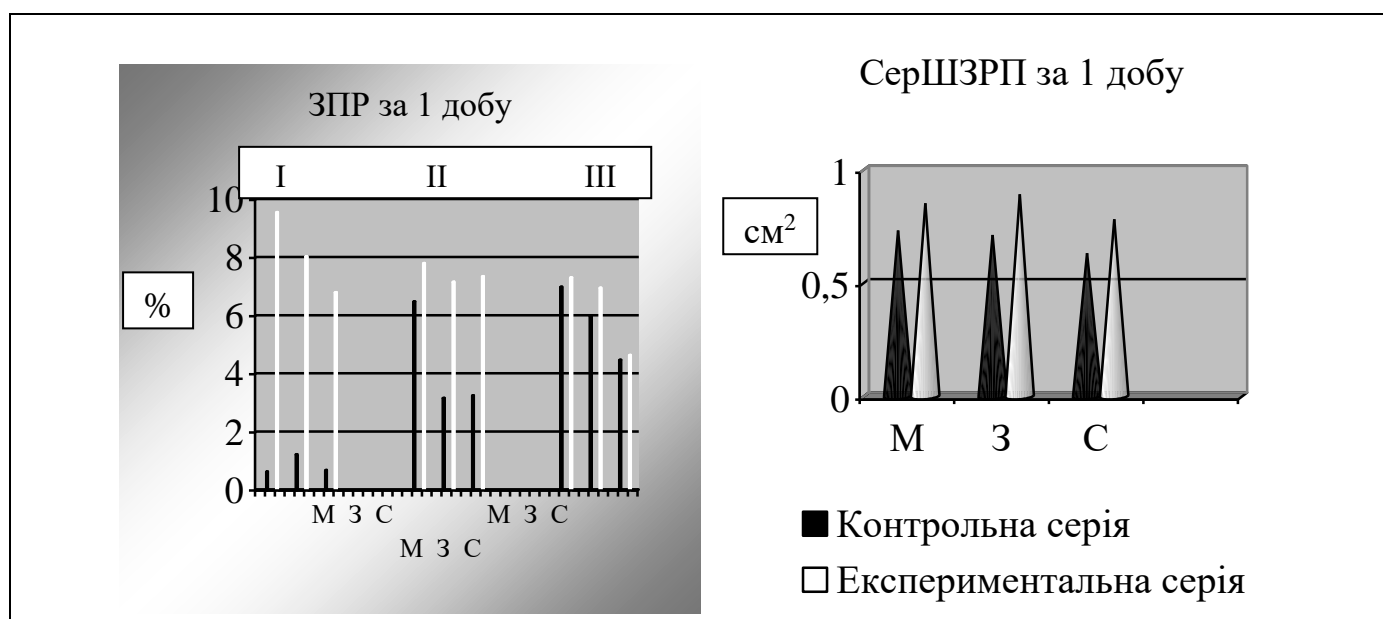
Рисунок 1 – Динаміка регенерації ранової поверхні шкіри тварин молодого (А), зрілого (Б) та старечого (В) віку контрольної та експериментальної серій: 1 – очищення рани; 2 – поява грануляцій; 3 – початок крайової епітелізації; 4 – повна епітелізація поверхні рани

Поява грануляцій за умов застосування хітозанових плівок була зафіксована достовірно раніше порівняно з контролем на одну добу ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого, на 0,83 доби ( $p \leq 0,01$ ) – в особин зрілого та 0,67 доби ( $p \leq 0,05$ ) – у щурів старечого віку, відповідно на  $(3,33 \pm 0,06)$ ,  $(3,67 \pm 0,21)$  і  $(4,33 \pm 0,21)$  доби – після завдання травми. Початок крайової епітелізації також був достовірно ранішим за умов застосування хітозанових плівок у тварин усіх вікових періодів. Необхідно



зазначити, що терміни повної епітелізації при цьому скоротилися відповідно на 1,53 ( $p \leq 0,05$ ) доби, 0,34 доби ( $p > 0,05$ ) та 0,83 ( $p \leq 0,05$ ) доби.

При цьому СерШЗРП була достовірно більшою у тварин усіх вікових груп експериментальної серії. Відсоток ЗПР за одну добу відрізнявся достовірно від контролю у тварин усіх вікових груп лише в періоди з 1-ї до 3-ї доби та з 4-ї до 7-ї доби спостереження. Так, із 1-ї до 3-ї доби він був найбільшим у тварин молодого віку –  $(9,56 \pm 1,92) \%$  (рис. 2). У період із 4-ї до 7-ї доби найбільша різниця на користь тварин експериментальної групи в ЗПР була встановлена у тварин зрілого віку – 55,87 % ( $p \leq 0,01$ ). Із 8-ї до 14-ї доби відсоток зменшення площі рани був також більшим у тварин усіх вікових груп при застосуванні хітозанових мембран, проте достовірної різниці порівняно з контролем виявлено не було.



Примітки: 1. М – тварини молодого віку; З – тварини зрілого віку; С – тварини старечого віку; 2. СерШЗРП – середня швидкість зменшення раневої поверхні, ЗПР – зменшення площі рани; 3. I – 1–3-тя доби, II – 4–7-ма доби, III – 8–14-та доби

Рисунок 2 – Динаміка змін показників ранового загоєння у тварин різних вікових груп контрольної та експериментальної серій

Серед показників динаміки стану опікової поверхні у віковому аспекті за результатами тесту Крускала–Уоліса значущу різницю мали такі показники, як термін повної епітелізації ( $p < 0,01$ ), СерШЗРП ( $p < 0,01$ ) та відсоток ЗПР ( $p < 0,05$ ).

Проведений кореляційний аналіз виявив взаємозв'язок між показниками планіметрії в певних термінах спостереження та динамікою стану раневої поверхні. Так, на 7-му добу експерименту у тварин зрілого та старечого віку загальна площа опікового дефекту мала зворотний зв'язок із відсотком ЗПР 4–7-ї діб ( $r = -0,877$ ;  $p < 0,05$  та  $r = -0,910$ ;  $p < 0,05$ ). У тварин молодого віку на цю добу виявлено негативний зв'язок площі епітелізації з цим самим показником динаміки ранового загоєння ( $r = -0,861$ ;  $p < 0,05$ ). Відповідно на 14-ту добу площа грануляційної тканини корелювала з відсотком ЗПР 8–14-ї діб, проте зв'язок мав позитивний



напрямок ( $r = 0,883$ ;  $p < 0,05$ ). Таким чином, більший за площею опік має повільнішу динаміку загоєння, однак і збільшення площі епітелію обумовлює уповільнення площі рани, регулюючи процеси грануляції та епітелізації ймовірно за механізмом контактної інгібіції.

Вивчаючи гістологічні препарати через одну добу експерименту було виявлено наявність сухого коагуляційного некрозу епідермісу, дерми та придатків шкіри у ділянці опікової травми. Порушення структури епідермісу, набряк сосочкового та сітчастого шарів дерми, зміни в структурі колагенових та еластичних волокон, клітинна інфільтрація, зміни кровоносних судин у вигляді розширення їх просвітів, стазу, тромбозів та крововиливів спостерігались у тварин усіх вікових груп обох серій спостереження.

У тварин експериментальної серії на 3-тю добу дослідження прояви судинних змін та периваскулярний набряк були менш вираженими порівняно з контролем. Дослідження морфометричних показників гістологічних препаратів виявило, що у тварин молодого та зрілого віку достовірні відмінності між контрольною та експериментальною серіями спостерігались для всіх показників, окрім відносної площі кровоносних судин дерми, у тварин старечого віку достовірних відмінностей виявлено не було. Необхідно зауважити, що найбільша різниця була встановлена для відносної площі судин дерми –  $22,89\%$  ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та  $25,92\%$  ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин зрілого віку на тлі істотної різниці у динаміці відносної площі стромального набряку –  $18,63\%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $16,14\%$  ( $p \leq 0,05$ ) у щурів цих самих вікових груп.

На 7-му добу експерименту застосування хітозану приводило до зменшення проявів мікроциркуляторних порушень, набряку дерми та позитивної динаміки формування макрофагально-гістіоцитарного валу на межі некротизованих і життєздатних тканин у тварин молодого та зрілого віку. А у тварин старечого віку виявлялися лише поодинокі осередки гнійного запалення та значне зменшення явищ ексудації навколо них. Дослідження гістологічних препаратів засвідчило, що найбільш вираженою різниця такого показника, як відносна площа стромального набряку, була у тварин молодого і у тварин старечого віку – відповідно  $29,86\%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $27,36\%$  ( $p \leq 0,05$ ).

На 14-ту добу експерименту у тварин усіх вікових груп завдяки застосуванню хітозану збільшувалася кількість елементів грануляційної тканини та зменшувалися ознаки запальної реакції, активізувався синтез фібробластами глікозаміногліканів (GAG) та фібрилярних структур, що сприяло розвитку сполучної тканини (Xin Meng, 2010). Мікроциркуляторних розладів та ділянок некрозу у щурів експериментальної серії майже не спостерігали. Клітинна адгезія та проліферація при застосуванні хітозану також була доведена на культурі людських дермальних фібробластів *in vitro* (Mohd Hilmi A. B., 2013). Епітелізація відбувалась активніше, оскільки хітозан стимулював утворення епітеліальних тяжів з неушкоджених ділянок та збережених придатків шкіри, а також появу осередків острівцевої регенерації. Незважаючи на позитивну динаміку всіх показників у тварин як контрольної, так і експериментальної серії, у тварин молодого та зрілого віку достовірну різницю зафіксували лише під час визначення відносної площі



стромального набряку (відповідно 20,00 % ( $p \leq 0,05$ ) і 20,04 % ( $p \leq 0,05$ )), а також середнього діаметра судин грануляційної тканини, що був більшим на 11,37 % ( $p \leq 0,05$ ) та 10,59 % ( $p \leq 0,05$ ) у щурів цих вікових періодів. У цьому терміні спостереження у тварин старечого віку достовірну різницю мали всі показники морфометрії гістологічних препаратів.

У тварин експериментальної серії на 21-шу добу спостереження відбувалася повна епітелізація ранового дефекту з утворенням тонкого ніжного рубця. Сполучна тканина формувалася рівномірно по всьому регенерату, деформацій та порушень її структури виявлено не було. У тварин контрольної серії відзначалися ознаки порушень проліферації та диференціювання епідермісу, а також порушення структури молодшої сполучної тканини, що призводило до виникнення рубцевих змін. Особливо помітним це було у тварин старечого віку. При цьому незавершена епітелізація та гальмування дозрівання сполучної тканини були найбільше виражені в центральній ділянці регенерату, а ступінь зрілості сполучної тканини зменшувався від поверхні рани до її дна. Морфометрія гістологічних препаратів виявила достовірні відмінності при застосуванні хітозану лише у тварин старечого віку – середній діаметр судин дерми був меншим на 13,46 % ( $p \leq 0,05$ ) та середній діаметр судин грануляційної тканини – більшим на 8,35 % ( $p \leq 0,05$ ), що обумовлено збільшенням кількості екстрацелюлярного матриксу та оптимізацією ремоделювання шкіри під впливом хітозану.

За одержаними даними проведеного двофакторного рангового дисперсійного аналізу Фрідмана для кожного вікового періоду була встановлена значуща різниця для таких показників, як відносна площа стромального набряку, середній діаметр судин дерми, відносна площа судин грануляційної тканини та середнього діаметра її судин з ймовірністю похибки  $p < 0,01$  у тварин усіх вікових груп.

Н-тест загальної рангової послідовності значень Крускала–Уоліса для встановлення значущості кожного з показників у віковому аспекті виявив значущість різниці з ймовірністю похибки  $p < 0,01$  для відносної площі стромального набряку та середнього діаметра судин дерми в усіх термінах спостереження.

Був установлений прямий кореляційний зв'язок між площею стромального набряку на 1-шу добу і терміном появи грануляцій у тварин зрілого віку ( $r = 0,952$ ;  $p < 0,01$ ), а у тварин старечого віку – на 7-му добу експерименту ( $r = 0,832$ ;  $p < 0,05$ ). Крім того, у тварин зрілого віку площа стромального набряку на 3-тю добу мала також позитивний зв'язок із терміном очищення ( $r = 0,837$ ;  $p < 0,05$ ) та з терміном повної епітелізації рани ( $r = 0,963$ ;  $p < 0,01$ ), а на 7-му добу – з відсотком ЗПР у період із 7-ї до 14-ї доби ( $r = -0,841$ ;  $p < 0,05$ ). Таким чином, можна стверджувати, що стромальний набряк уповільнював динаміку загоєння опіку, збільшуючи терміни очищення ран, появи грануляційної тканини та епітелізації рани.

Дослідження цитологічних препаратів виявило подібну динаміку змін у контрольних тварин молодого та зрілого віку, в той час як у тварин старечого віку спостерігалася помітне уповільнення цитологічних змін. Так, цитограми 1-ї доби дослідження належали до дегенеративно-запального типу у тварин молодого та зрілого віку і до некротичного типу – у тварин старечого віку контрольної серії. Цитограми ж експериментальної серії тварин виявили ознаки переходу від



некротичного до дегенеративно-запального типу у тварин старечого віку, що обумовлювалося зниженням кількості лейкоцитів у полі зору до  $(118,00 \pm 1,77)$  та частки нейтрофільних гранулоцитів – до  $(97,67 \pm 0,21) \%$ , а також появою моноцитів і макрофагів.

Цитологічна картина 3-ї доби дослідження характеризувалася, крім зменшення відсотка нейтрофілів та кількості лейкоцитів у полі зору у тварин усіх вікових груп, ще й достовірним збільшенням частки моноцитів та макрофагів у тварин молодого віку на  $49,62 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $24,02 \%$  ( $p \leq 0,05$ ), у тварин зрілого віку – на  $71,79 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $30,72 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) й на  $71,80 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $66,67 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин старечого віку порівняно з контролем. Відсоток полібластів виявився більшим під час застосування хітозану на  $19,95 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого віку та на  $35,36 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин зрілого віку. Рівень фібробластів достовірно був більшим у тварин молодого віку – на  $45,36 \%$  ( $p \leq 0,01$ ) порівняно з контролем, у той час як у тварин зрілого віку цей тип клітин був виявлений лише в експериментальній серії  $(0,67 \pm 0,21) \%$ . У тварин старечого віку в контрольній серії лише відбулась поява, а в експериментальній – зростання частки моноцитів, макрофагів та полібластів за відсутності фібробластів та ендотеліоцитів як у контрольній, так і в експериментальній серії. Вищеперелічені зміни та зменшення явищ деструктивного типу фагоцитозу характеризує цитограми цього терміну спостереження як перехідні від дегенеративно-запального до запального типу в контролі та запального – в експериментальній серії тварин молодого та зрілого віку та свідчить про дегенеративно-запальний тип у тварин старечого віку контрольної серії та позитивну динаміку на користь запального – в експерименті.

На 7-му добу спостереження була визначена достовірно менша кількість лейкоцитів у тварин усіх вікових груп – на  $34,09 \%$  ( $p \leq 0,05$ ),  $21,88 \%$  ( $p \leq 0,05$ ) та  $36,36 \%$  ( $p \leq 0,01$ ) відповідно до віку, однак частка нейтрофілів достовірно зменшилася лише у щурів молодого та зрілого вікових періодів – на  $38,22 \%$  ( $p \leq 0,01$ ) та на  $45,89 \%$  ( $p \leq 0,01$ ). Застосування хітозанових плівок забезпечувало у тварин молодого та зрілого віку достовірне зростання частки макрофагів, фібробластів та ендотеліоцитів. Дія хітозану реалізувалася через вплив на макрофагальну ланку запально-репаративної реакції завдяки стимуляції клітинної міграції, а також активізації секреції цитокінів, які мають значення в міграції та активації фібробластів, що підтверджено в праці Hong Tao Pang (2008). У тварин старечого віку достовірні зміни відбулися лише з часткою фібробластів, яка була на  $19,14 \%$  ( $p \leq 0,01$ ) більшою порівняно з контролем. Так, якщо у тварин молодого та зрілого віку контрольної серії на підставі виявлених показників можна стверджувати про запальний тип цитограми, а в експериментальній серії – про перехід до запально-регенераторного, в той час як у групі тварин старечого віку спостерігався лише перехід до запального типу цитограм у контролі та повільніший, порівняно з тваринами інших вікових категорій, перехід до запально-регенераторного типу – при застосуванні хітозану.

Із 14-ї доби показники цитограм усіх вікових груп контрольної серії були характерні для перехідних до запально-регенераторного, а в експериментальній групі – для регенераторно-запального з ознаками переходу до регенераторного у



тварин молодого та зрілого та регенераторно-запального – у тварин старечого віку. Відбулося нівелювання вікових особливостей регенерації, яка обумовлювала відставання змін цитологічної картини у тварин старечого віку, що демонструвалось як поступовим збільшенням частки макрофагально-моноцитарних клітин, так і представників гістіоцитарного ряду у тварин усіх вікових груп контрольної серії порівняно з 7-ю добою спостереження. Проте в групі тварин старечого віку експериментальної серії достовірно більшою була частка лише макрофагів на 20,62 % ( $p \leq 0,05$ ) та фібробластів – на 28,07 % ( $p \leq 0,05$ ).

Цитологічне дослідження препаратів 21-ї доби спостереження виявило мінімальні значення кількості лейкоцитів у полі зору та частки нейтрофільних гранулоцитів, а також максимальні – фібробластів та ендотеліоцитів за весь період експерименту у тварин усіх вікових груп обох серій. Однак хітозанові мембрани обумовлювали достовірне збільшення макрофагів та фібробластів відповідно у тварин молодого віку на 16,31 % ( $p \leq 0,05$ ) та 16,33 % ( $p \leq 0,05$ ), а у тварин зрілого віку – на 14,06 % ( $p \leq 0,05$ ) та 15,00 % ( $p \leq 0,05$ ), у той час як у тварин старечого віку, незважаючи на позитивну динаміку, достовірної різниці в показниках макрофагально-моноцитарного та гістіоцитарного компонентів виявлено не було. Підсумовуючи динаміку змін цитологічної картини, можна стверджувати про більш упевнений перехід до типового регенераторного типу цитогам у тварин молодого та зрілого віку порівняно зі старечим віковим періодом експериментальної серії.

Значущість різниці цитологічних показників у динаміці термінів спостереження за даними двофакторного рангового дисперсійного аналізу Фрідмана була достовірною з ймовірністю похибки  $p < 0,01$  для таких показників: кількості лейкоцитів у полі зору, відсотка нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів, фібробластів та ендотеліоцитів для тварин усіх вікових груп.

Дані Н-тесту Крускала–Уоліса продемонстрували, що різниця в кількості лейкоцитів у тварин різних вікових груп була достовірною в усіх термінах спостереження, крім 21-ї доби. Для відсоткового вмісту нейтрофілів достовірною різниця виявилася на 1-шу, 3-тю та 7-му добу експерименту. Для моноцитів та ендотеліоцитів достовірної різниці між показниками тварин різних вікових груп встановлено не було.

Проведений кореляційний аналіз засвідчив, що кількість лейкоцитів на 1-шу добу спостереження у тварин зрілого віку мала зворотний зв'язок із термінами очищення та повної епітелізації рани ( $r = -0,853$ ;  $p < 0,05$ , та  $r = -0,89$ ;  $p < 0,05$ ) відповідно, а частка нейтрофільних гранулоцитів – позитивний зв'язок із відсотком ЗПР 1–3-ї та 4–7-ї діб спостереження ( $r = 0,902$ ;  $p < 0,05$ , та  $r = 0,841$ ;  $p < 0,05$ ). Відсоток макрофагів 1-ї доби дослідження у тварин молодого віку мав негативну кореляцію з терміном початку епітелізації ( $r = -1,000$ ;  $p < 0,001$ ) та позитивну – із терміном повної епітелізації ( $r = 1,000$ ;  $p < 0,001$ ). Зі збільшенням відсотка нейтрофілів у тварин зрілого віку на 7-му добу збільшувалися терміни ранового очищення ( $r = 0,901$ ;  $p < 0,05$ ), а у тварин старечого віку кількість лейкоцитів цього терміну спостереження корелювала з терміном повної епітелізації ( $r = 0,843$ ;  $p < 0,05$ ). Кількість лейкоцитів у тварин зрілого віку та відсоток нейтрофілів у щурів молодого віку на 14-ту добу мали негативний корелятивний



зв'язок зі ШЗРП ( $r = -0,822$ ;  $p < 0,05$ , та  $r = -0,866$ ;  $p < 0,05$ ) відповідно. Отже, збільшення кількості лейкоцитів та частки макрофагів забезпечувало активізацію очищення ранової поверхні та сприяло більш ранньому початку епітелізації, але на більш пізніх етапах загоєння затримувало повну епітелізацію рани.

Таким чином, хітозанові плівки створюють механічний бар'єр, запобігаючи вторинному інфікуванню поверхні рани. Матеріали на основі хітозану здатні сорбувати надлишок ексудату без висихання поверхні рани та оптимізувати паро- та газообмін із довкіллям, створюючи оптимальне середовище для міграції клітин і зменшуючи мікробне навантаження. У процесі біодеградації хітозану вивільняються продукти, що стимулюють міграцію нейтрофілів і макрофагів в осередок запалення, що приводить до швидкого очищення рани від детриту та зменшує мікробне обсіменіння рани. Крім того, відбувається активізація фагоцитарної активності, що підсилює антимікробний ефект. Олігосахариди, що утворюються в процесі деградації, стимулюють міграцію моноцитів із кров'яного русла з подальшою трансформацією їх у макрофаги. У фазі проліферації олігомери хітозану впливають на кількість та активність фібробластів, пришвидшуючи утворення сполучної тканини. Стимулювальний вплив на проліферацію доведений J. Chang та співавт. на культурі фібробластів *in vitro*, а O. Yu. Rogulska та співавт. (2014), досліджуючи хітозанові матеріали з різним ступенем деацетилювання, встановили, що рівень адгезії мезенхімних стромальних клітин до поверхні носія та здатність до проліферації є значними саме до хітозанових матеріалів із високим ступенем деацетилювання. У працях K. Koijima та співавт. (2004), а також R. A. Muzzarelli (2009) доведено, що хітозан стимулює синтез колагену IV типу та його упорядковане депонування. Це пояснює зменшення площі рубцевої тканини при використанні хітозану. В цій самій фазі хітозан стимулює проліферацію ендотеліоцитів, що сприяє утворенню нових капілярів. Із віком відбувається зниження чутливості клітин до ефекторних впливів, що пояснює меншу ефективність хітозану у старечому віці. Ефекти впливу на клітини регенерату проявляються активізацією процесів очищення рани, формування та дозрівання грануляційної тканини, сприяють неоангіогенезу та активують процеси епітелізації.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подане теоретичне обґрунтування та розв'язане практично наукове завдання: вивчення морфофункціональних особливостей ділянки шкіри після опікової травми та використання для загоєння хітозанових плівок у віковому аспекті.

1. У процесі репаративної регенерації відзначається затримка змін типу цитограм від некротичного до регенераторного у тварин старечого віку, що обумовлено віковими особливостями ранового загоєння як у фазі запалення, так і на етапах проліферації та ремоделювання. Формування тканин регенерату починається на  $(4,33 \pm 0,09)$  добу у тварин молодого, на  $(4,50 \pm 0,22)$  добу – зрілого віку та на  $(5,00 \pm 0,26)$  добу – старечого віку контрольної серії. У період з 8-ї до 14-ї доби спостереження відзначається максимальний відсоток зменшення площі рани у



тварин усіх вікових груп, проте середня швидкість зменшення рани помітно відстає у групі тварин старечого віку. Повна епітелізація опікової поверхні відбувається на 19–20-у доби у щурів усіх вікових періодів контрольної серії. На 21-шу добу після моделювання опікової рани спостерігається виникнення рубцевої тканини, що особливо виражене у тварин старечого віку.

2. Застосування хітозанових плівок призводить до зменшення загальної площі дефекту та відносної площі некрозу в період із 3-ї до 14-ї доби у тварин усіх вікових груп спостереження. Поява грануляцій відбувається на 0,67–1,0 доби раніше за контроль у тварин усіх вікових груп ( $p \leq 0,05$ ), проте зростання відносної площі грануляцій на 26,34–29,34 % ( $p \leq 0,05$ ) спостерігається лише у тварин молодого та зрілого віку на 7-му добу з подальшим зменшенням у кінцевий термін спостереження. У щурів усіх вікових періодів достовірна різниця відсотка зменшення площі рани за одну добу спостерігається в терміни з 1-ї до 3-ї та з 4-ї до 7-ї доби. Так, із 1-ї до 3-ї доби він був найбільшим у тварин молодого віку –  $(9,56 \pm 1,92)$  %, а у період із 4-ї до 7-ї доби найбільша різниця на користь тварин експериментальної групи була встановлена у тварин зрілого віку – 55,87 % ( $p \leq 0,01$ ), при цьому середня швидкість зменшення рани була достовірно більшою у щурів усіх вікових груп експериментальної серії порівняно з контролем.

3. Застосування хітозанових мембран викликає зменшення кількості лейкоцитів та відсотка нейтрофілів у тварин молодого та зрілого віку з 1-ї доби спостереження, в той час як у тварин старечого віку цей показник мав достовірну різницю з контролем лише на 3-тю добу після травми. Частка макрофагів набувала максимальних значень у тварин молодого та зрілого віку на 7-му добу –  $(29,33 \pm 1,02)$  та  $(26,00 \pm 0,93)$  % відповідно, в той час як у тварин старечого віку – лише на 14-ту добу експерименту ( $(26,67 \pm 0,21)$  %). На відміну від контролю у тварин зрілого віку експериментальної серії відбувається поява фібробластів уже на 3-тю добу, а у тварин усіх вікових груп їх кількість достовірно перевищувала контроль в усі подальші терміни спостереження. Використання хітозану призводить до більш швидкого переходу типів цитограм із установленим регенераторного типу у тварин молодого та зрілого віку й регенераторно-запального – у щурів старечого віку на 21-шу добу після травми.

4. Використання хітозанових мембран сприяє формуванню грануляційної тканини, рівномірному формуванню сполучнотканинних компонентів дерми, новоутворенню кровоносних судин, стимулює крайову епітелізацію рани. На 21-шу добу спостереження відбувається повна епітелізація ранового дефекту з утворенням тонкого рубця. Ріст грануляційної тканини характеризується зростанням як відносної площі, так і діаметра її судин у більш ранній термін спостереження – у молодих та зрілих тварин із 3-ї доби спостереження, а у щурів старечого віку – із 7-ї доби після моделювання травми.

5. Проведений кореляційний аналіз установив наявність зворотного зв'язку кількості лейкоцитів на 1-шу добу спостереження у тварин зрілого віку з термінами очищення та повної епітелізації рани ( $r = -0,853$ ) та ( $r = -0,89$ ), при цьому частка нейтрофільних гранулоцитів мала позитивний зв'язок із відсотком зменшення площі рани 1–3-ї та 4–7-ї діб спостереження ( $r = 0,902$ ) та ( $r = 0,841$ ). Збільшення кількості



запальних клітин, забезпечуючи активізацію очищення ранової поверхні, сприяє більш ранньому початку епітелізації, однак на більш пізніх етапах загоєння затримує повну епітелізацію рани. Установлено, що стромальний набряк уповільнює динаміку загоєння опіку, збільшуючи терміни очищення, появи грануляційної тканини та епітелізації рани. Більший за площею опік має повільнішу динаміку загоєння, проте збільшення площі епітелію регулює процеси грануляції та епітелізації, ймовірно, за механізмом контактної інгібіції.

## **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Матеріали для лікування дефектів шкіри: перспективи застосування похідних хітозану / М. В. Погорелов, В. В. Корнієнко, Ю. А. Ткаченко, О. М. Олешко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 275–285. (Здобувачем здійснено пошук і аналіз літературних джерел, підготовку матеріалу до друку).

2. Корнієнко В. В. Планіметрія поверхні опікової рани при використанні хітозанових мембран / В. В. Корнієнко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2013. – Т. 1, № 4. – С. 8–18.

3. Особливості цитологічної картини поверхні опікової рани при використанні хітозанових плівок / В. В. Корнієнко, О. В. Калінкевич, В. М. Дейнека, М. В. Погорелов // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 65–69. (Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку й аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

4. Використання хітозану для лікування пошкоджень різної етіології / М. В. Погорелов, О. В. Калінкевич, О. В. Солодовник, О. М. Олешко, О. М. Калінкевич, В. В. Корнієнко, Ю. А. Ткаченко, Г. Ф. Ткач, С. М. Данильченко, І. М. Бабіч // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 2 (61). – С. 150–154. (Здобувачем здійснено пошук і аналіз літературних джерел, підготовку матеріалу до друку).

5. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових мембран в різні вікові періоди / В. В. Корнієнко, О. В. Калінкевич, М. В. Погорелов, О. М. Олешко // Морфологія. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 42–50. (Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку й аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

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

7. Корнієнко В. В. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових плівок у тварин старечого віку / В. В. Корнієнко, О. М. Олешко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4, Т. 1 (113). – С. 275–278. (Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку й аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

8. Погорелов М. В. Планіметричні та морфометричні показники динаміки процесу загоєння модельованого опіку при застосуванні хітозанових мембран у тварин різних вікових груп / М. В. Погорелов, В. В. Корнієнко // Морфологія. –



2015. – Т. 9, № 2. – С. 58–61. (Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку і аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

9. Моделирование дефектов кожи у экспериментальных животных / А. Н. Олешко, В. В. Корниенко, Ю. А. Ткаченко, В. А. Курганская // *Georgian Medical News*. – 2015. – № 2 (239). – С. 103–108. (Здобувачем здійснено пошук і аналіз літературних джерел, підготовку матеріалу до друку).

10. Пат. № 89985 Україна, МПКG09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам / Олешко О. М., Корнієнко В. В., Ткаченко Ю. А., Погорєлов М. В., Бончев С. Д., Дейнека В. М.; патентовласник Сумський державний університет. – № и 2013 13489 ; заявл. 20.11.13 ; опубл. 12.05.14, Бюл. № 9.

11. Корнієнко В. В. Новий хітозановий гідрогель для лікування опікових ран / В. В. Корнієнко, М. В. Погорєлов // Актуальні питання сучасної медицини : Міжнар. наук. конф. студентів та молодих учених, присвячена 20-річчю медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, 18–19 квітня 2013 р. : тези доп. – Харків, 2013. – С. 104.

12. Корнієнко В. В. Дослідження процесів фагоцитозу при застосуванні хітозану для лікування опіків шкіри / В. В. Корнієнко, М. В. Погорєлов // Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини : Міжнар.наук.-практ. конф. студентів та молодих учених, 10–12 квітня 2013 р. : тези доп. – Суми, 2013. – С. 10–11.

13. Корнієнко В. В. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових плівок у тварин різних вікових груп / В. В. Корнієнко // Актуальні питання сучасної медицини : Міжнар. наук. конф. студентів та молодих учених, присвячена 20-річчю медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, 17–18 квітня 2014 р. : тези доп. – Харків, 2014. – С. 85–86.

14. Корнієнко В. В. Особливості регенераторних процесів в опіковій рані тварин молодого віку при використанні хітозанових плівок / В. В. Корнієнко // Актуальні питання теоретичної та практичної медицини : II Міжнар. наук.-практ. конф. студентів та молодих учених, 16–18 квітня 2014 р. : тези доп. – Суми, 2014. – С. 79–80.

15. Корниенко В. В. Динамика процесса заживления ожоговых ран у животных старческого возраста при применении хитозанового покрытия / В. В. Корниенко // Молодежная наука и современность : 79-я Всероссийская науч. конф. студентов и молодых ученых с международным участием, 16–17 апреля 2014 г. : тезисы докл. – Курск, 2014. – С. 193.

16. Kornienko V. V. Dynamics of planimetric indexes of the burn areas after chitosan membrane application / V. V. Kornienko // Морфологічні дослідження – виклики сучасності : наук.-практ. конф., 23–24 квітня 2015 року : тези доп. – Суми, 2015. – С. 52–53.



## АНОТАЦІЯ

**Корнієнко В. В. Морфофункціональні особливості регенерації шкіри при опіковій травмі та застосування хітозанових плівок у віковому аспекті. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Сумський державний університет МОН України. – Суми, 2015.

Дисертаційна робота присвячена вивченню морфофункціональних особливостей ділянки шкіри після опікової травми та використання для загоєння хітозанових плівок у віковому аспекті.

Очищення ран від некротичних тканин при застосуванні хітозанових мембран відбувається у тварин молодого та старечого віку на одну добу, а у щурів зрілого віку – на 0,83 доби раніше порівняно з контролем. Зменшення стромального набряку в тварин молодого і зрілого віку починається із 3-ї доби, а у щурів старечого віку – із 7-ї доби спостереження. Поява грануляцій відбувається на 0,67–1,0 доби раніше за контроль у тварин усіх вікових груп експериментальної серії, проте достовірно більшим (на 26,34–29,34 %) відсоток грануляційної тканини спостерігається лише у тварин молодого та зрілого віку на 7-му добу спостереження.

Використання хітозанових мембран сприяє формуванню грануляційної тканини та сполучнотканинних компонентів дерми, новоутворенню кровоносних судин, стимулює крайову епітелізацію рани. У тварин експериментальної серії на 21-шу добу спостереження відбувається повна епітелізація ранового дефекту з утворенням тонкого ніжного рубця. Із віком відбувається зниження чутливості клітин до ефекторних впливів, що може пояснити меншу ефективність хітозану у тварин старечого віку.

**Ключові слова:** опікова рана, шкіра, хітозан, вік, репаративна регенерація.

## АННОТАЦИЯ

**Корниенко В. В. Морфофункциональные особенности регенерации кожи при ожоговой травме и применение хитозановых пленок в возрастном аспекте. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Сумский государственный университет МОН Украины. – Сумы, 2015.

В процессе регенерации кожи после термического ожога происходит миграция клеток в область травмы, что обеспечивает очищение поверхности от некротизированных тканей и микроорганизмов. Задержка смены типа цитогрaмм от некротического к регенераторному обуславливается возрастными особенностями процесса раневого заживления как в фазу воспаления, так и на этапах пролиферации и ремоделирования. Формирование тканей регенерата начинается на  $(4,33 \pm 0,09)$  суток у животных молодого, на  $(4,50 \pm 0,22)$  суток – зрелого и на  $(5,00 \pm 0,26)$  суток – у крыс старческого возраста. Процент уменьшения площади раны был максимальным в период с 8-х по 14-е сутки во всех возрастных группах, однако средняя скорость уменьшения раны заметно отставала у животных старческого



возраста. Эпителизация поверхности раны начинается на  $(6,50 \pm 0,22)$  суток у животных молодого возраста, что на 0,33 суток раньше аналогичного показателя животных старческого возраста. Полная эпителизация происходит на  $(19,20 \pm 0,43)$ ,  $(19,17 \pm 0,42)$  и  $(20,83 \pm 0,17)$  суток у животных молодого, зрелого и старческого возрастов. На 21-е сутки после травмы наблюдается образование рубцовой ткани, что особенно выражено у животных старческого возраста.

Применение хитозана при лечении ожоговой раны приводит к уменьшению общей площади дефекта и относительной площади некроза с 3-х по 14-е сутки во все возрастные периоды. Появление грануляций отмечалось на 0,67–1,0 суток раньше у животных всех возрастов контрольной серии, однако увеличение относительной площади грануляций на 26,34–29,34 % наблюдалось только у животных молодого и зрелого возраста на 7-е сутки с последующим уменьшением в конечный срок наблюдения. В отличие от контроля во все возрастные периоды процент уменьшения площади раны наблюдался в сроки с 1-х по 3-и и с 4-х по 7-е сутки, при этом средняя скорость уменьшения раны была достоверно выше у крыс всех возрастных групп экспериментальной серии.

Особенностями клеточного состава поверхности раны при применении хитозановых мембран были уменьшение количества лейкоцитов и процента нейтрофилов у животных молодого и зрелого возраста с 1-го дня наблюдения, в то время как у животных старческого возраста данный показатель имел достоверную разницу с контролем только на 3-и сутки после травмы. Доля макрофагов достигала максимальных значений у животных молодого и зрелого возраста на 7-е сутки эксперимента ( $(29,33 \pm 1,02)$  % и  $(26,00 \pm 0,93)$  % ( $p \leq 0,05$ )) соответственно, в то время как у животных старческого возраста – лишь 14-е сутки. В отличие от контроля у животных зрелого возраста экспериментальной серии происходит появление фибробластов уже на 3-и сутки, а у животных всех возрастов их количество достоверно превышало контроль во все последующие сроки наблюдения. Использование хитозана обеспечивает ускорение смены типов цитограмм с установлением регенераторного типа у животных молодого и зрелого возраста и регенераторно-воспалительного – у крыс старческого возраста на 21-е сутки после травмы.

Использование хитозановых мембран приводит к уменьшению воспалительных и сосудистых изменений в области травмы и формированию грануляционной ткани в более ранние сроки по сравнению с контролем у животных всех возрастных групп. Соединительная ткань формировалась равномерно по всему регенерату, деформаций и нарушения ее структуры обнаружено не было у крыс всех возрастных периодов. Применение хитозана стимулировало краевую эпителизацию, формирование компонентов дермы, образование новых кровеносных капилляров. Нарушение структуры за счет рубцовых изменений были обнаружены лишь в некоторых гистологических препаратах кожи животных старческого возраста.

Морфометрические исследования выявили уменьшение стромального отека у животных молодого и зрелого возраста с 3-х суток, а у крыс старческого возраста – с 7-го дня наблюдения. Уменьшение сосудистой реакции в виде расширенных полнокровных сосудов дермы отмечается с 7-го дня после травмы во все возрастные



периоды. Рост грануляций в более ранний срок характеризуется ростом как относительной площади, так и диаметра сосудов грануляционной ткани у молодых и зрелых животных с 3-х суток наблюдения, а у крыс старческого возраста – с 7-го дня после травмы.

Проведенный корреляционный анализ установил наличие обратной связи количества лейкоцитов на 1-е сутки наблюдения у животных зрелого возраста со сроками очищения и полной эпителизации раны ( $r = -0,853$  и  $r = -0,89$ ), при этом доля нейтрофилов имела положительную связь с процентом уменьшения площади раны 1–3-х и 4–7-х суток наблюдения ( $r = 0,902$  и  $r = 0,841$ ). Увеличение количества воспалительных клеток, обеспечивая активизацию очищения раневой поверхности, способствует более раннему началу эпителизации, но на более поздних этапах заживления задерживает полную эпителизацию раны. Установлено, что стромальный отек замедляет динамику заживления ожога, увеличивая сроки очищения, появления грануляционной ткани и эпителизации раны. Для большего по площади ожога характерна более медленная динамика заживления, однако увеличение площади эпителизации регулирует процессы грануляции и эпителизации вероятно по механизму контактного ингибирования.

**Ключевые слова:** ожоговая рана, кожа, хитозан, возраст, репаративная регенерация.

## ABSTRACT

**Kornienko V. V. The morphologic and functional features of skin burn wounds regeneration and application of chitosan membranes in different age. – Manuscript.**

Thesis for the degree of candidate of medical sciences in specialty 14.03.01 – Normal anatomy. – Sumy State University, Ministry of Education and Science of Ukraine. – Sumy, 2015.

The thesis is devoted to study the age-related morphologic and functional features of the burned area of the skin and application of chitosan membranes for its healing.

Application of chitosan accelerated cleaning of dead tissue in the wounds of young and old animals; it occurred a day earlier than in controls. Cleaning of dead tissue in mature animals happened on 0.83 day earlier in comparison with controls. Decreasing of stromal edema began in young and mature animals at day 3, in old animals – at day 7. Granulation formation appeared in 0.67–1.0 day earlier in all experimental groups comparing with controls. Although, granulation tissue increased significantly (26.34–29.34 %) in young and mature animals at day 7.

Thus, chitosan application stimulates formation of granulation tissue and structural components of the dermis, development of blood vessels and epithelization at the wound edge. Complete epithelization with formation of a thin scar took place in experimental animals at day 21. Lower efficacy of chitosan application in old animals may be explained by decreased receptivity of cells to effector influences.

**Keywords:** burn wound, skin, chitosan, age, reparative regeneration.



**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

СерШЗРП – середня швидкість зменшення ранової поверхні

ЗПР – зменшення площі рани

GAG – глікозаміноглікани



