

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ТКАЧЕНКО ЮЛІЯ АНАТОЛІЇВНА

УДК 616.5-001.17-005.54-078-092.9(043.5)

ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ШКІРИ ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ЛІКУВАННІ  
ХІМІЧНОГО ОПІКУ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ХІТОЗАНОВИХ МЕМБРАН

14.03.01 – нормальна анатомія

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник –  
Погорелов Максим Володимирович,  
доктор медичних наук, доцент

Суми - 2016

## ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1 Особливості хімічних опіків	8
1.2 Сучасні уявлення про лікування дефектів шкіри	16
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	26
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	31
3.1. Морфофункціональні зміни шкіри тварин молодого віку за умов хімічного опіку	31
3.2. Морфофункціональні зміни шкіри тварин зрілого віку за умов хімічного опіку	44
3.3. Морфофункціональні зміни шкіри тварин старечого віку за умов хімічного опіку	57
3.4. Морфофункціональні зміни шкіри тварин молодого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани	71
3.5. Морфофункціональні зміни шкіри тварин зрілого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани	84
3.6. Морфофункціональні зміни шкіри тварин старечого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани	97
РОЗДІЛ 4 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	109
ВИСНОВКИ	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133
ДОДАТОК А	152

## ВСТУП

**Актуальність.** Опіки є найбільш поширеними ушкодженнями в практиці невідкладних станів [31]. Їх частота становить від 5,6 до 12 % у структурі всіх видів травм [4]. Поширеність опіків різної етіології – від 1:10 000 до 1:1000 серед популяції, смертність від цього виду ушкоджень становить від 1,5 до 5,9 %. Найбільш уразливими при цьому є діти до 14 років та особи старше 55 років [64, 156]. В Україні частота опіків у дітей становить 14,0 на 10 000 дитячого населення [20]. При цьому через незрілість тканинних структур та недосконалість репаративних механізмів навіть незначні за площею опіки можуть призводити до тяжких ускладнень [23]. Подібні наслідки мають опіки і у хворих похилого віку через зменшення регенераторного потенціалу шкіри.

У структурі опікового травматизму найбільш часто спостерігається термічне ураження. В Україні щорічно реєструється біля 50 тис. постраждалих, 10 тис. з яких є діти до 16 років. При цьому з кожним роком відбувається зростання частоти опіків хімічної, термічної та радіаційної етіології [11]. Хімічні опіки шкіри можуть спричиняти концентровані кислоти та луги, солі важких металів і фосфор [21, 32]. Найпоширенішими агентами є кислоти і луги, що містяться в побутових засобах, а також на виробництві [34]. Особливістю хімічних опіків є можливість руйнації тканин навіть після припинення дії агента до його повної нейтралізації чи інактивації тканиною [65]. Тому хімічні опіки є більш тяжкими, а їх перебіг характеризується ускладненнями з формуванням рубцевої тканини. Лікування кислотних опіків є складнішим порівняно з термічною травмою через більш виражені ураження тканин та неможливість визначити глибину ураження на початкових етапах лікування внаслідок продовження некрозу тканин хімічним агентом.

Застосування засобів для місцевого лікування опіків забезпечує захист травмованих ділянок шкіри від контакту з повітрям і контамінації мікроорганізмами з неушкоджених ділянок шкіри та повітря, зменшує механічне пошкодження та повинне створити оптимальні умови для епітелізації ушкоджених ділянок [65, 92].

На сьогодні існує безліч засобів для лікування опіків різної етіології як природного, так і синтетичного походження, що впливають на різні етапи регенерації

шкіри після опіку [8, 15, 107, 130]. Проте застосування цих засобів при хімічних опіках виявляє свої особливості, при цьому відсутні спеціальні засоби, спрямовані на нейтралізацію хімічного агента та усунення наслідків дії кислот чи лугів. У літературі є поодинокі ці щодо морфофункціональних змін регенерату шкіри під час застосуванні різних засобів місцевого лікування хімічного опіку.

Останнім часом проводяться чисельні розроблення нових засобів для лікування дефектів шкіри на основі хітозану – похідного хітину. При цьому в літературі відсутні ці щодо змін репаративної регенерації шкіри при застосуванні матеріалів на основі хітозану в умовах кислотного опіку зовнішнього покриву.

### **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).

**Мета і завдання дослідження.** Мета дослідження – морфологічних особливостей процесів регенерації ділянки шкіри у віковому аспекті при моделюванні опікової рани хімічної етіології та використанні хітозанових мембран.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні задачі:

1. На експериментальній моделі виявити закономірності регенерації шкіри тварин молодого, зрілого та старечого віку в умовах кислотної травми.
2. Визначити особливості планіметричних показників поверхні рани тварин різного віку після кислотного опіку в умовах застосування хітозанової мембрани.
3. Вивчити клітинний склад поверхні рани тварин різного віку у процесі регенерації ділянки шкіри при використанні матеріалу на основі хітозану.
4. Визначити особливості морфометричних параметрів ділянки шкіри тварин різного віку при лікуванні хімічного опіку матеріалами на основі хітозану.

5. Прослідкувати особливості мікробної контамінації шкіри після кислотного опіку та застосування хітозанових мембран у тварин різних вікових груп.

*Об'єкт дослідження* – процеси регенерації ділянки шкіри у тварин різного віку.

*Предмет дослідження* – морфологічний стан ділянки шкіри у щурів різного віку за умов хімічного опіку та використання хітозанових мембран.

*Методи дослідження:*

планіметрія – для визначення швидкості процесу регенерації шкіри;

цитологічне дослідження – для визначення особливостей клітинного складу регенерату шкіри;

гістологічне дослідження – для вивчення морфологічних особливостей регенерату шкіри на мікроскопічному рівні;

морфометрія – для визначення особливостей тканинного співвідношення регенерату шкіри в різні терміни після кислотного опіку;

мікробіологічне дослідження – для вивчення особливостей мікробної контамінації поверхні рани;

статистичний – для визначення достовірності одержаних відмінностей кількісних показників регенерату шкіри.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше на значній кількості матеріалу встановлені особливості стану шкіри після моделювання хімічного опіку у різні вікові періоди. Визначені особливості планіметрії рани, клітинного складу поверхні ушкоджених ділянок шкіри та морфометричні особливості процесів загоєння за умов хімічного опіку. З'ясовані особливості мікробної контамінації рани в різні вікові періоди та виявлена залежність мікробного складу рани залежно від віку.

Уперше доведена можливість застосування інноваційних мембран на основі хітозану для лікування пошкоджень шкіри, викликаних дією кислоти. Встановлені морфофункціональні особливості регенерації шкіри, що полягають у скороченні термінів загоєння рани, зростанні кількості макрофагів та фібробластів, зменшенні судинної реакції, а також прискоренні утворення грануляційної тканини та епітелізації поверхні рани при використанні хітозанових мембран.

**Практичне значення одержаних результатів.** Це дослідження може бути морфологічним підґрунтям для визначення особливостей лікувальної тактики при кислотному ураженні шкіри у пацієнтів різного віку. Визначені морфофункціональні особливості процесів регенерації шкіри в різні вікові періоди дозволять диференційовано підходити до призначення лікувальних засобів.

У роботі проведене детальне вивчення нового матеріалу на основі низькомолекулярного хітозану для лікування дефектів шкіри та встановлені особливості його ефективності у тварин різного віку при кислотному опіку, що може бути морфологічним підґрунтям для проведення клінічних досліджень засобів медичного призначення.

Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальний процес на кафедрах анатомії людини Буковинського державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Запорізького державного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертантом здійснений інформаційний пошук літературних даних, самостійно проведені всі експериментальні дослідження, статистичне опрацювання результатів та їх аналіз. Автором проведено узагальнення одержаних результатів, підготовлені праці до друку і висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертації обговорені на Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «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 II Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 16–18 квітня 2014 р.), на науково-практичній конференції «Морфологічні дослідження – виклики сучасності» (Суми, 23–24 квітня 2015 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць, з яких 5 статей – у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України для медичних наук (з них 2 – у науковому журналі, що індексується SciVerse Scopus) 1 патент на корисну модель, 3 праці – у матеріалах з’їздів, конференцій.

# РОЗДІЛ I

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.2 Особливості хімічних опіків

Велика кількість хімічних агентів можуть викликати не лише опіки шкіри і слизових оболонок а й чинити системний вплив через абсорбцію чи інгаляцію діючої речовини. Дані травми у більшості випадків потребують медикаментозного та хірургічного лікування. В залежності від природи агента та типу ушкодження (глибини опіку, наявності опіку легень чи слизових), даний вид травми призводить до тимчасової чи постійної втрати працездатності.

На даний час більш ніж 25 000 хімічних речовин використовуються у виробництві, сільському господарстві та у якості засобів побутового використання, при цьому більшість з них потенційно можуть викликати пошкодження зовнішніх покривів [65]. Зважаючи на це, ризик хімічних опіків є значним як у побутових умовах, так і на виробництві. На жаль, знання населення про можливість опіку при взаємодії поверхні шкіри з побутовими засобами, що містять потенційно небезпечні речовини, є досить низькими. Через це останні десятиліття значно зросла кількість побутових опіків, особливо серед жінок. Особливою проблемою є використання хімічних агентів для скоєння злочинів, зокрема замахів на життя [64, 152]. З іншого боку, зростання хімічного виробництва призвело до зростання кількості виробничих травм, в тому числі при техногенних катастрофах з виливом хімічних реагентів у навколишнє середовище. Політична нестабільність у світі та зростання кількості конфліктів обумовлюють використання хімічної зброї, яка може викликати ураження шкіри та дихальних шляхів. Огляди останніх років показують значне зростання кількості уражень білим фосфором, незважаючи на заборону його використання у військових конфліктах [79].

Незважаючи на достатньо низький відсоток хімічних опіків у структурі ушкоджень шкіри – до 4-5%, 55% з них потребують хірургічного лікування, до 40% - викликають стійкий косметичний дефект, а смертність сягає 30%. Особливості патогенезу хімічних опіків утруднюють їх діагностику та лікування. Так, достатньо важко встановити глибину та площу ураження шкіри при опіках лугами та кислотами



через пролонговану дію чинника [24]. Хімічні опіки на виробництві та під час військових конфліктів зазвичай комбіновані з ураженням легень та слизових оболонок, зокрема кон'юнктиви ока, що потребує комплексного підходу до ведення таких пацієнтів [27].

Організм не має специфічних систем, які забезпечують захист та відновлення після термічної, електричної, радіаційної травми чи ураження хімічними агентами. Денатурація білків є загальним патогенетичним механізмом ураження при всіх зазначених травмах, проте існує принципова різниця між механізмами ураження при термічному та хімічному опіках. Хімічний опік викликаний пролонгованою дією агенту (хвилини) і ураження шкіри може продовжуватись навіть після видалення хімікату з поверхні шкіри. В той же час термічне ураження викликане нетривалим (секунди) впливом високої температури, і дія уражуючого фактору може бути припинена раптово [57].

Механізм пошкодження білків при термічній та хімічній травмі є також різним. Структура білка залежить не лише від послідовності амінокислот, а й від його третичної структури, яка забезпечується слабкими водневими зв'язками чи силами ван дер Ваальса [86]. Третична структура є ключовим фактором, який забезпечує біологічну активність протеїна та легко руйнується зовнішніми впливами. При термічній травмі відбувається швидка коагуляція білка за допомогою реакцій зшивання (cross-linking), в той час як при хімічному опіку деструкція білка є пролонгованою за рахунок інших механізмів, в першу чергу – гідролізу [67]. Дані механізми можуть тривати доти, доки наявний хімічний агент в місці травми, особливо у глибоких ділянках ураження, де його важко видалити. Крім того, хімічні агенти можуть викликати системну дію в залежності від своєї природи та потенційної токсичності. Загалом, важкість ураження при хімічному опіку залежить від таких факторів як концентрація, кількість діючого агенту, тривалість взаємодії за шкірою, глибини проникнення та механізму дії агента.

На сьогоднішній день виділяють 6 типів хімічних агентів за механізмом дії [36]:

1. Оксиданти – денатурація білка при взаємодії з речовиною відбувається за рахунок привнесення атома кисню, сірки чи водню в молекулу протеїну (гіпохлорит натрію, перманганат калію та окиси хрому);
2. Редуктанти – редукуючі агенти діють шляхом зв'язування вільних електронів в тканинних протеїнах. При цьому в результаті хімічної реакції вивільняється тепло, яке може бути додатковим ушкоджуючим фактором. Найбільш розповсюдженими речовинами з даним механізмом дії є соляна та азотна кислоти;
3. Речовини з корозійною дією – в результаті контакту частинок хімічного агенту з білками виникає їх механічне пошкодження (феноли, білий фосфор);
4. Весіканти – викликають локальну ішемію з розвитком аноксичного некрозу тканин в місці контакту (гірчичний газ, диметил сульфоксид);
5. Десікканти – речовини, які викликають ушкодження тканин шляхом їх дегідратації. При цьому дуже часто спостерігається екзотермічна реакція, що зумовлює додаткове термічне ураження поверхні (сірчана та соляна кислота).

Класифікація хімічних агентів за хімічною структурою базується на їх властивості впливати на рН. При цьому, агенти з одного класу можуть мати різний механізм дії на структуру білкової молекули. Таким чином, існує 4 класи хімічних речовин, які можуть викликати ушкодження шкіри [36]:

1. Кислоти та донатори протонів. Дані речовини вивільняють іони водню та знижують рН середовища від 7 до 0. Кислоти з рН нижче 2 викликають коагуляційний некроз тканин при контакті зі шкірою. На додачу до рН, сила кислоти визначається кількістю лугу, необхідного для нейтралізації, тобто зростання рН до нейтрального [137].
2. Луги та акцептори протонів. Дані речовини зв'язують іони водню з протонуваних аміно- та карбоксильних груп білків. Луги з рН, яке перевищує 11,5 здатні викликати колікваційний некроз, при цьому глибина ураження є

значно більшою, ніж за умов дії кислоти. Таким чином, опіки лугами є більш тяжким у порівнянні з опіками, які викликані кислотами.

3. Органічні розчинники. Речовини, які викликають лізис ліпопротеїдів клітинної мембрани та руйнування клітинних білків.
4. Неорганічні розчинники. Ушкоджують шкіру через шляхом прямого зв'язування та формування солей. При цьому часто виникає виражена екзотермічна реакція, яка обумовлює додаткову термічну травму ділянки.

Додатково до загальних принципів ведення травм шкіри, невідкладна допомога та ведення пацієнтів з опіками шкіри має свої особливості [105]. Так, невідкладна допомога при хімічних опіках незалежно від класу агента включає в себе: а) видалення агента з поверхні шкіри, б) лікування проявів системної токсичності хімічного агента, в) використання антидоту в раз його наявності та г) місцеве лікування з урахуванням механізму дії агента та його класу.

Видалення хімічного агента з поверхні шкіри є абсолютно необхідним через те, що деструкція білків продовжується упродовж всього часу контакту з хімічною речовиною [177]. Зважаючи на це, промивання ураженої поверхні з метою видалення хімічного агента має проводитись вже на місці інциденту та продовжене в спеціалізованому відділенні. Зрошення поверхні рани має бути значним, проте обережним, через можливість додаткового травмування неушкоджених ділянок тіла та слизових оболонок. У більшості випадків промивання рани необхідно проводити за допомогою води [56], що може значно змінити рН поверхні. Видалення хімічного агента за допомогою промивання водою необхідно проводити тривалий час, особливо в разі ураження кислотами чи лугами. Так, для зміни рН поверхні з 5 до 11 необхідно від 30 хвилин до 2 годин постійного промивання [125]. За можливості, необхідно контролювати рН промивних вод, що надасть можливість контролювати час обробки рани. Доведено, що раннє та адекватне промивання поверхні рани дозволяє зменшити тяжкість ураження та зменшити терміни госпіталізації.

В якості розчину для промивання у більшості випадків можна застосовувати звичайну воду за деякими виключеннями [166]. Так, деякі речовини можуть спричиняти виражену екзотермічну реакцію при взаємодії з водою, а інші є

нерозчинними. Так, феноли є нерозчинними у воді і їх необхідно видалити за допомогою губки з поверхні рани перед подальшою обробкою. Оксид кальцію при взаємодії з водою утворює кальцію гідрохлорид, який спричиняє лужне ураження шкіри [134]. Концентрована сірчана кислота спричиняє виражену екзотермічну реакцію при взаємодії з водою, що може призвести до додаткової термічної травми. Тому перед промиванням водою необхідно провести нейтралізацію кислоти мильним розчином [176].

Взагалі, питання використання нейтралізуючих агентів є дискусійним. Деякі автори наголошують, що тривале промивання водою поверхні опіків, які спричинені кислотами та лугами, є найбільш ефективним методом деконтамінації поверхні [162]. Але, використання розчинів для нейтралізації при відомому етіологічному чиннику опіків має ефективно видалити реагент з поверхні рани та попередити подальшу деструкцію тканин. При цьому ключовим питанням використання нейтралізуючих засобів є їх об'єм. Також залишається відкритим питання розвитку екзотермічних реакцій та той факт, що розчин для нейтралізації сам може викликати опік при неправильному його використанні [194]. При цьому, більшість авторів вважають, що при наявності відомого антидоту більш доцільне первинне промивання поверхні за допомогою води з подальшою нейтралізацією хімічного чинника та повторним тривалим промиванням.

У подальшому, ведення пацієнтів з хімічними опіками проводять за загальними принципами для хворих з термічними ураженнями. Для стимуляції процесів регенерації шкіри проводять місцеве лікування з використанням гелів, мазей та пов'язок. При цьому видалення нежиттєздатних ділянок шкіри та їх пластику необхідно проводити в максимально можливі ранні терміни [64].

Лікування хімічних опіків, на відміну від термічних уражень, слід проводити з врахуванням агента, який викликав травму [107]. Так, вапно, в склад якого входить оксид кальцію, при взаємодії з водою перетворюється на гідроксид кальцію, який викликає тяжкі опіки з ураженням усіх шарів шкіри. Після видалення сухого вапна та інтенсивного промивання необхідне накладання антибактеріальних пов'язок на уражену поверхню [64]. Гідроксид натрію широко використовується у побутових засобах, зокрема для очищення поверхонь. При цьому попадання концентрованого

розчину на поверхню шкіри викликає тяжкі ушкодження, які розповсюджуються до моменту повного видалення реагента з поверхні [34]. Особливістю дії даного хімікату є можливість омилення ліпідів підшкірно-жирової тканини. Рекомендується масивне промивання поверхні до моменту повної нейтралізації рН з подальшим накладенням пов'язок з мафенід-ацетатом і антибактеріальними властивостями [162].

Безводний аміак широко використовується як азотне добриво в сільському господарстві та зберігається і транспортується у вигляді рідини під тиском. У поєднанні з достатньою кількістю кисню він може вибухнути. Контакти з рідиною, яка зберігається при  $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$ , викликають обмороження і некроз тканин, при розчиненні в воді аміак має сильні лужні властивості [177]. Аміак згубний для слизових оболонок і в газоподібному стані може викликати хімічні опіки слизової очей та легень. Відповідно до сучасних даних, промивання слід продовжувати через кожну годину упродовж доби. Крім того, використання пов'язок слід уникати протягом першої доби після ураження, так як вони можуть сприяти глибокому проникненню безводного аміаку [188].

Гіпохлорит натрію, також відомий як відбілювач, він хімічно аналогічний гіпохлориту кальцію. Обидва використовуються як окислювачі, у приготуванні відбілюючих та дезінфекційних розчинів. Гіпохлорит має сильні лужні властивості і його дія на шкіру може викликати колікваційний некроз. Важливо пам'ятати, що гіпохлорит натрію має сильну подразнюючу дію на очі та дихальні шляхи [57]. Ведення хворих з опіками гіпохлоритом натрію не відрізняється від лікування ушкоджень іншими лугами.

Білий фосфор є складовою частиною боєприпасів і вибухових речовин, а також є частою причиною опіків у військових. Однак, він також використовується у виготовленні пестицидів, добрив і феєрверків, а також під час незаконного виробництва метамфетаміну. Враховуючи це, цивільні травми стали більш поширеними в останні десятиріччя. Білий фосфор створює комбінований термічний і хімічний опік. Його ліпофільний характер дозволяє йому проникати глибоко в тканини, тому результати лікування є більш повільними, ніж при ізольованих хімічних опіках [125, 178].

Початкове лікування опіків білим фосфором складається із зрошення і усунення навіть найдрібніших частинок речовини. Білий фосфор може автоматично спалахнути при контакті з киснем при низьких температурах аж до 30 ° C, тому вода для зрошення опікової рани повинна бути прохолодною. Також пропонується негайна хірургічна обробка рани з метою повного видалення хімікату [148]. Мідний купорос, який перетворює частки білого фосфору на чорний, колись використовувався для полегшення видалення. Однак, системна дія поглиненої міді може привести до тяжкої токсичності, включаючи гемоліз, олігурію і серцево-судинну недостатність. Слід зазначити, що системна токсичність фосфору (гіпокальціємія та гіперфосфоремія) є основною проблемою, з якою стикаються лікарі у перші дні лікування, для чого необхідно постійний моніторинг ЕКГ хворого [59].

Сірчана кислота є одним з найбільш поширених причин хімічних опіків, завдяки своїй доступності в концентрованому вигляді в домашньому використанні для очищення труб. Її дія призводить до зневоднення тканин і коагуляційного некрозу. Це часто призводить до глибоких опіків, в лікуванні яких необхідно використовувати замінники шкіри та трансплантацію [150].

Плавикова кислота присутня в різних продуктах для очищення поверхонь, в тому числі і від іржі у концентраціях від 6% до 12%. Вона також може використовуватися у виробництві скла і для травлення мікročіпів в концентраціях, що перевищують 70%. Плавикова кислота особливо небезпечна через наявність подвійного механізму дії: на додаток до кислотної корозії, фторид-іони проникають глибоко в тканини, де вони вступають в реакцію з кальцієм і магнієм [138, 166].

Калій у великих концентраціях призводить до деполяризації нервових волокон, що проявляється сильним болем. Інші місцеві ефекти включають себе тривале заживлення рани та остеоліз [195]. Системна гіпокальціємія і результуюча гіперкаліємія може призвести до розвитку аритмій. При цьому гіпокальціємія може розвиватися при дії лише 1% розчину кислоти.

Фтор має пряму токсичну дію на велику кількість ферментів, що ускладнює загоєння опіку. Хоча більшість опіків плавиковою кислотою не є важкими, існують чисельні описи смертельних наслідків. Так, при опіках кислотою з концентрацією

20% наближається до 100%, хоча є данні про летальні випадки при опіках плавиковою кислотою у концентрації 2,5% [148].

Лікування опіків плавиковою кислотою полягає у інтенсивному промиванні поверхні з подальшою обробкою глюконатом кальцію. Ефективність оцінюється за зменшенням больового синдрому. В подальшому необхідне місцеве лікування з постійним моніторингом електролітів та ЕКГ [79, 100].

Каустикова кислота містить аніон, який може привести до серйозної системної токсичності за межами локального опіку. При цьому шестивалентний хром є найбільш токсичним. Гостра ниркова недостатність була зареєстрована після опіків 1% кислотою, а летальні випадки – при дії 10% каустикової кислоти. Після промивання необхідно використовувати фосфатні буферні компреси для зв'язування залишкових іонів хрому [56]. Крім того, безпосереднє хірургічне висічення уражених ділянок забезпечує найбільш ефективне видалення залишків хімічного агента і обмежує загальну токсичність [64].

Фенол, також відомий як карболова кислота, це ізолят кам'яновугільної смоли, який використовуються у хімічному виробництві. Джозеф Лістер виступав за його використання в якості антисептика, але це використання було обмежене через його токсичність. Його контакт зі шкірою може викликати ряд ефектів від дерматиту, депігментації і знежирення в низькій концентрації (1,5%) до важкого некрозу при більш високій концентрації (від 10% до 40%). Він має знеболюючий ефект, і тому його дія не викликає больового синдрому, що утруднює діагностику. Його ліпофільний характер викликає глибоке проникнення і системну абсорбцію, що може привести до гемолізу і ушкодження нирок, печінки і центральної нервової системи [178]. Фенол є набагато більш розчинний в поліетиленгліколю, ніж у воді. Таким чином, промивання поверхні рани рекомендується з використанням розчину поліетиленгліколю з подальшим використанням води під тиском [64].

Таким чином, хімічні опіки викликають поліморфні ураження шкіри, патогенез яких залежить від типу хімічного агента та експозиції. Крім того, тяжкість та глибина ураження обумовлена неперервною дією чинника до моменту його видалення з поверхні шкіри. Особливістю хімічних опіків є також тривала денатурація білка, яка відбувається навіть після видалення агента та додатковий вплив складових хімічної

речовини на ферментні та сигнальні системи. Це зумовлює більш значні зміни тканин та утруднює загоєння дефекту, яке у більшості випадків завершується формуванням рубцевої тканини.

## 1.2 Сучасні уявлення про лікування дефектів шкіри

Травма шкіри призводить до утворення воріт, через які відбувається втрата рідин, електролітів та підвищується ризик проникнення патогенних мікроорганізмів. Таким чином, закриття рани є першочерговим завданням під час лікування ушкоджень шкіри. Для цього традиційно використовують такі матеріали як марлеві пов'язки, але вони забезпечують нетривалий ефект та відіграють роль лише механічного бар'єра. Тому протягом останніх десятиріч ведуться активні пошуки ідеального матеріалу для лікування ушкоджень шкіри.

Перші свідчення про застосування матеріалів для лікування ран ми одержуємо із шумерських клинописних табличок, де є опис застосування пов'язок із медом та молоком для прискорення загоєння опікових ран. Єгипетські папіруси, датовані 1550–1650 рр. до нашої ери, містять детальний опис того, як промивати рани та застосовувати пов'язки з медом, а також рослинними та тваринними маслами [128]. Проте основний прорив в лікуванні ран із застосуванням штучних та природних матеріалів був здійснений у другій половині 20-го століття.

Поряд із появою стерильної техніки і матеріалів у 19-му столітті, мабуть, одним із найбільш значущих ідей для зміни характеру перев'язувального матеріалу була концепція вологого загоєння ран. Згідно з нею, основним завданнями лікування є забезпечення вологості тканин рани та її постійний контроль на відміну від попередньої думки про необхідність зневоднення ранової поверхні. Початком активного використання концепції вологого загоєння ран стали публікації Winter та Hinnman у журналі *Nature* [112, 193]. Ці статті засвідчили, що свіжі рани, які залишалися вологими під поліетиленовими плівками, мали значно більший потенціал реепітелізації, ніж рани, що залишалися сухими. Вважалося, що цей принцип може бути прийнятним і для лікування хронічних ран, і у 70-ті ХХ ст. роки з'явилися перші напівоклюзивні матеріали для лікування хронічних або ран, які довго не загоюються. На сьогодні є доведеним, що вологе ведення ран пов'язане з прискоренням одужання,



покращанням косметичного ефекту, зменшенням інфекції та больового синдрому, а також зниженням вартості лікування [101, 114, 123, 149].

Концепція вологого лікування ран не означає необхідності введення надмірної рідини на поверхню рани. Основними завданнями лікування є підтримка фізіологічного зволоження, що означає зменшення кількості ексудату на поверхні рани у першій фазі загоєння рани, і підтримка оптимальної вологості в процесах утворення грануляцій та епітелізації. Через наявність надмірного ексудату у фазі запалення відбувається значна втрата вологи поверхнею, а також зростає ризик інфікування рани. При цьому хронічні або рани, що довго не загоюються, характеризуються пролонгацією фази запалення, і зменшення ексудату в цьому випадку може прискорити перехід у фазу розвитку грануляцій. Крім того, трофічні виразки характеризуються значною втратою рідини через наявність патології венозних та лімфатичних судин, що також обумовлює необхідність зменшення кількості рідини в рані. На стадії утворення грануляцій при забезпеченні адекватного зволоження може виникати необхідність її підтримки за допомогою штучних матеріалів. І за умов дефіциту вологи може виникати необхідність додаткового зволоження поверхні рани.

Таким чином, усі матеріали для забезпечення вологого ведення ран можна поділити на 3 групи: 1) матеріали–сорбенти; 2) пов'язки, що забезпечують підтримку оптимальної гідратації рани та 3) зволожувальні покриття. На сьогодні в Європі та Сполучених Штатах Америки зареєстровано більше ніж 400 засобів медичного призначення для лікування ран, серед яких є альгірати, піни, гідрогелі, гідроколоїди та напівпроникні плівки [138; 150].

Сорбувальні пов'язки є безумовно необхідними в разі гіперпродукції ексудату з поверхні рани. На відміну від таких традиційних матеріалів, як марля, сорбенти мають високий потенціал поглинання вологи та здатні до її утримання, що значно збільшує час між перев'язками. На цей час препаратами вибору є піни та альгірати кальцію. У подальшому при формуванні грануляцій та утворенні сполучної тканини використання сорбентів може зневоднити поверхню рани. У цьому разі є необхідність підтримання природної вологості, що може бути забезпечене гідроколоїдними та проникними плівковими покриттями. При висиханні поверхні рани та формуванні

струпа є необхідність додавання вологи на поверхню рани для забезпечення процесів її епітелізації. В даному випадку застосовують гідрогелі, що мають у своєму складі менше полімерів та загусників та більше вологи.

При цьому основними завданнями сучасних матеріалів є не лише вплив на рівень вологості, а й підтримка та регуляція рівня активних хімічних речовин. Дослідження показали, що рани різної етіології, які довго не загоюються, мають східний біохімічний профіль, а саме: підвищення рівня протеаз, дисбаланс цитокінів та факторів росту, гіпоксія тканин та наявність мікробної контамінації [100, 131]. Також у хронічних та ранах, що довго не загоюються, виявлено зростання старіючих клітин, які характеризуються зменшенням рівня проліферації та міграції, зниженням відповіді на дію факторів росту та виробництва білків позаклітинного матриксу. Кількість старіючих клітин може бути відповіддю на порушення біохімічного профілю рани. Так, доведено зменшення активності молодих фібробластів після контакту з ексудатом із трофічної виразки [60, 77]. Тому на медичному ринку з'являються нові матеріали, функція яких не обмежується контролем вологості рани, а спрямована, зокрема, й на корекцію порушень мікрооточення ранової поверхні.

Загалом, аналізуючи методи лікування ран та сучасний ринок медичних засобів, можна стверджувати, що ідеальний матеріал для лікування пошкоджень шкіри повинен бути нетоксичним, апірогенним, не виявляти подразнювальної та антигенної дії, забезпечувати підтримку вологого середовища в рані, бути бар'єром для мікроорганізмів або мати антимікробні властивості, бути проникним для газів та стимулювати процеси регенерації.

На сьогодні всі матеріали можна поділити на три категорії: біологічні, синтетичні та композитні, які у своєму складі мають як штучний, так і біологічний матеріал.

На цей час у клінічній практиці використовують 3 основні природні біологічні покриття для лікування пошкоджень шкіри – алошкіру, отриману від померлих; ксеношкіру, отриману від тварин, переважно свиней, та оброблену для видалення антигенів; людський амніон. Використання цих покриттів забезпечує вирішення чотирьох основних проблем – забезпечення адекватного гемостазу, зменшення втрати рідини з поверхні ран, зменшення мікробної інвазії та полегшення больового

синдрому [165]. Алогенна людська шкіра використовується у клінічній практиці впродовж кількох десятиліть і зарекомендувала себе як матеріал вибору у багатьох країнах світу. Раннє використання алошкіри для закриття дефекту призводить до зменшення запалення та больового синдрому, зниження відсотка інфекційних ускладнень і прискорення утворення грануляцій. Алошкіра виявила себе більш ефективною, ніж ксеношкіра та амніотична мембрана. Проте, незважаючи на новітні механізми стерилізації та обробки, є ризик передачі інфекції, особливо вірусної та пріонної етіології. Також алошкіра може зберігати антигенні властивості і у разі розвитку імунологічної реакції погіршити перебіг репаративного процесу. Значною проблемою є також етичні норми забору та зберігання шкіри. У багатьох країнах, зокрема і в Україні, законодавчо не врегульовані питання використання алошкіри.

Ксеногенна ліофілізована свиняча шкіра є найбільш поширеним біологічним матеріалом для закриття дефектів шкіри в нашій країні. Перевагами цього покриття є достатньо прості методики його отримання, зберігання і транспортування. Застосування ксеношкіри призводить до покращання епітелізації, зменшення мікробного навантаження на рану. Деякими дослідженнями доведена наявність знеболювальної дії. При цьому порівняння даного матеріалу з алошкірою свідчить про переваги останньої. Можливо, у процесі обробки ксеношкіра втрачає деякі компоненти епідермісу та дерми, що знижує біологічну активність цього покриття. Застосування ліофілізації, обробки антибіотиками тощо значно зменшує ризик антигенного навантаження та занесення інфекції, проте не виключає їх.

Амніотична оболонка після тривалих досліджень не рекомендується для використання як покриття дефектів шкіри через її високу біологічну активність та здатність до інфікування.

Загалом, незважаючи на цілий ряд позитивних властивостей, біологічні матеріали мають значні обмеження до застосування: високу антигенність, низьку адгезивність та ризик інфікування пацієнта.

Велика кількість пов'язок, що з'явилися на ринку медичних засобів, виявляє у своєму складі біологічні субстрати. Ці біоматеріали, як правило, є похідними позаклітинного матриксу і призначені для впливу на процес регенерації, а не лише на

підтримку вологості в рані. Вони часто мають біодеградувальні властивості та можуть викликати клітинну відповідь, яка відсутня в синтетичних матеріалах.

Перші біокомпозитні матеріали для пластики дефектів шкіри та інших тканин з'явилися у 80-х роках 20-го століття на основі колагену та глікозаміногліканів [163]. Ці матеріали мають стимулювальний вплив на процеси міграції клітин, синтез позаклітинного матриксу та самі можуть бути субстратом для його утворення. На сьогодні на медичному ринку наявні кілька десятків матеріалів на основі цих біополімерів, проте є дані щодо наявності в них деяких недоліків, що спонукає дослідників до вивчення інших природних полімерів як основи для конструювання біокомпозитних матеріалів. Формами випуску даних матеріалів є гелі, пасти, порошки, гранули, губки та пористі покриття. Вважається, що екзогенний колаген виявляє ті ж самі ефекти на клітини рани, що й ендогенний. У культурі клітин доведені його хемотаксичні властивості на фібробласти та макрофаги [135]. Також доведено, що тривимірна сітка колагенових губок може бути основою для прикріплення фібробластів та інших клітин шкірного матриксу і стимулювати його проліферацію. Деякі пов'язки мають у своєму складі гіалуронову кислоту, що також відіграє значну роль у загоєнні ран. Ці матеріали зарекомендували себе у лікуванні трофічних виразок шкіри різної етіології [33, 38].

Одним із факторів, що впливають на загоєння рани, є рівень протеолітичних ферментів. Так, у ранах, які довго не загоюються, констатується підвищений рівень ферментів – матричних металопротеаз [147]. Ці ферменти у підвищеній кількості знаходяться в рані на першій, запальній, стадії ранового процесу та забезпечують проникність клітин запалення в глиб рани і контролюють рівень факторів міграції. Наприкінці першої фази загоєння їх рівень значно знижується, забезпечуючи початок формування грануляційної тканини. У хронічних виразках матричні металопротеази перебувають на стабільному рівні, що обумовлює процеси деградації новоутвореного міжклітинного матриксу та перешкоджає формуванню грануляцій з подальшою епітелізацією. При цьому підвищений рівень ферментів виявляють в хронічних ранах різної етіології, включаючи трофічні виразки, бактеріальні ускладнення тощо. На цей час у практиці лікаря є композитний матеріал, що складається із 55 % бичачого колагену та 45 % відновленої целюлози. Ксеногенний колаген здатний зв'язувати

металопротеази, таким чином зменшуючи їх вплив на екстрацелюлярний матрикс. З іншого боку, відновлена целюлоза виявляє здатність захищати білки позаклітинного матриксу від дії активної металопротеази [181, 190].

Наприкінці 20-го століття на медичному ринку з'явилися матеріали з антимікробною дією, що забезпечують безперервне або пролонговане вивільнення антисептичного засобу на поверхню рани з одночасною регуляцією вологого стану поверхні. Одним з активних антимікробних засобів є йод, який у поєднанні з кадексомером крохмалю утворює пасту. Крохмаль здатний до поглинання великої кількості вологи, що призводить до поступового вивільнення активного йоду, що забезпечує антимікробну дію. Цей матеріал був вивчений у 9 рандомізованих контрольованих дослідженнях під час лікування гострих ран [172] та 2 дослідженнях з лікування трофічних венозних та діабетичних виразок [46]. Результати, одержані під час досліджень, свідчать, що матеріал виявляє не лише антибактеріальну дію, а й позитивно впливає на процеси загоєння дефекту порівняно зі звичайними марлевими пов'язками чи активними компонентами (йодом та крохмалем) поодиноці.

Срібло також є антибактеріальним агентом, який часто застосовується у ранових матеріалах, таких як гідрогелі, пов'язки та гідроколоїди на основі колагену. Повільне вивільнення металу забезпечує сталий антибактеріальний ефект. Є два основних способи внесення срібла в матеріал – це утворення металевієї плівки та внесення у композит солей металу. Деякі дослідження засвідчують позитивний вплив альгінатів срібла не лише на зменшення мікробної контамінації, а й на прискорення загоєння ран, зокрема й хронічних венозних виразок [35, 94].

Загалом матеріали на основі біологічних полімерів є високоефективними під час лікування ран різної етіології, проте здатні викликати імунну відповідь та досить дорогі, що обмежує їх широке використання.

Синтетичні матеріали займають провідне місце в лікуванні ран різної етіології, у них довготривалий період розпаду, вони не мають антигенних властивостей та не викликають запальної реакції. Багато матеріалів здатні регулювати ступінь вологості, мікробної контамінації, проте мають різний стимулювальний вплив на швидкість загоєння рани [29, 95, 120].

На сьогодні доведений позитивний вплив на лікування ран різної етіології та глибини таких полімерів, як полігідроксиетілметакрилат, поліетиленгліколь [113], сополімерів етилен– та пропіленоксидів [153], похідних гіалуронової кислоти та хондроїтину сульфату [106], а також желатину [47].

Останніми роками збільшилася кількість досліджень можливості застосування як основи для біологічно активних матеріалів хітозану, що є похідним природного полімеру хітину. Хітозан має цілий ряд властивостей, що обумовлюють його використання як матеріалу для пластики дефектів шкіри – відновлюваність ресурсів, відсутність токсичності, апірогенність, гемостатичні та бактеріостатичні властивості, біосумісність та біодеградація. Також цей матеріал здатний стимулювати процеси регенерації та перешкоджати утворенню шрамів [103, 151, 158, 160, 173]. За даними Bottomley et al., матеріали на основі хітозану можуть також стимулювати секрецію медіаторів запалення, таких як інтерлейкін–8, простагландин E, інтерлейкін–1 $\beta$  тощо [133, 192]. Публікації останніх років свідчать про використання хітозану як одного зі складників біоматеріалів. Так, на цей час є дані щодо виробництва на основі цього матеріалу гідрогелів [54], мембран [50, 89, 102], нановолокон [50], мікро– та наночастинок [83, 144] та губок [82, 118].

Використання хітину та хітозану для виробництва волокнистих матеріалів, що складаються з нановолокон біополімеру, показало наявність у них таких властивостей, як антибактеріальної дії [91], стимуляції міграції фібробластів та синтезу глікозаміногліканів [98] і прискорення загоєння рани [121]. Нановолокна хітозану також використовувались як складова матеріалу на основі акрилової кислоти чи ізопропілакриламиду та колагену. Ці матеріали мають високу ступінь абсорбції, задовільні антибактеріальні та стимулювальні властивості [191].

Kossovich et al. проводили дослідження можливості застосування нановолоконного матеріалу на основі хітозану для лікування поширених опіків IIIa та IIIb ступенів. Результати свідчать про наявність високої сорбційної активності матеріалу, адекватної вентиляції рани та її захисту від інфекції. На додаток відзначалося прискорення загоєння поверхні порівняно з традиційним лікуванням. При цьому біодеградація матеріалу зменшувала кількість перев'язок та знижувала травматизацію ранової поверхні [69]. В іншому дослідженні використовувався

композит хітозану та шовкового фіброїну, який виявив високі антибактеріальні властивості та задовільну адгезію фібробластів на поверхні тривимірної структури матеріалу [97].

Гідрогелеві матеріали на основі хітину та хітозану показали їх високу здатність прискорювати загоєння ран різної етіології. На тваринних моделях доведена значна перевага застосування гідрогелів перед хітозановими непористими мембранами [72]. Гідрогель на основі водорозчинного хітину застосовувався для аплікацій на ранову поверхню шкіри кролів та довів свою ефективність стосовно зменшення запалення та стимуляції міграції фібробластів [109].

Проведені дослідження двошарового гідрогелю на основі хітозану з ригідним вологопоглинальним нижнім шаром для забезпечення абсорбції та гнучким верхнім – для можливості моделювання поверхні рани. Дослідження на свинях показало, що цей матеріал здатний стимулювати ріст судин та міграцію макрофагів і фібробластів у зону травми [186]. На культурі фібробластів доведені висока здатність до адгезії клітин на поверхні гідрогелю та відсутність цитотоксичного ефекту [49]. Для підвищення функціональності гідрогелевих пов'язок до хітозану додавалися такі активні інгредієнти, як гепарин [161], альгінати та флукоїдан [116], полівенілакрил та гліцерил [78], міноциклін [105]. Окрім основної дії, ці матеріали забезпечують наявність додаткових властивостей, таких як гідрофільність, антимікробна дія, стимулювання загоєння ран тощо.

Формування мембран на основі хітозану здатне забезпечити зменшення швидкості біодеградації, наявність адсорбувальної та антимікробної дії. Крім того, мембрани на основі полімеру є прозорими, що забезпечує можливість спостереження за поверхнею рани без зміни покриття, це зменшує її травматизм [68]. Є дослідження щодо введення до складу мембран стимуляторів росту, таких як фактора росту фібробластів. Інкорпорація активної речовини до складу мембрани дозволяє забезпечити її пролонговану дію за рахунок повільного вивільнення в міру деградації хітозану [88]. В дослідженнях Burkatovskaya et al. доведена гемостатична властивість хітозанових мембран, що дозволяє зменшити частоту ускладнень при веденні глибоких пошкоджень шкіри різної етіології [87]. Останніми роками проводяться дослідження з формування мембрани з гідрогелю хітозану товщиною 0,1 мм, яка

забезпечує задовільні сорбційні властивості, антимікробну дію та є проникною для кисню [110].

Останнім часом зросла кількість досліджень з виробництва комбінованих мембран на основі хітозану. Як додаткові інгредієнту при цьому використовували колаген, глікозаміноглікани [136], поліетиленгліколь діакрилат [70], альгінати [63], гіалуронову кислоту [71], дигідроетилметакрилат [175] тощо для підвищення механічних і біологічних властивостей матеріалу.

Є дані щодо синтезу композита на основі хітозану та желатину [51]. На тваринних моделях автори довели відсутність токсичності, пірогенності та подразнення шкіри і слизової оболонки ока при застосуванні цього композита. Антибактеріальні властивості хітозан/желатинового комплексу відзначалися на рівні ципрофлоксацину та пеніциліну щодо кишкової палички та золотистого стафілокока. При цьому застосування матеріалу призвело до покращання утворення колагенового матриксу новоутвореної шкіри.

Підвищення антимікробної активності хітозанових мембран досягається також за рахунок уведення до їх складу наночастинок срібла. Ця комбінація приводить до зростання бактерицидної активності хітозану та здатна стимулювати регенеративні процеси в рані [139]. Ricardo J. B. Pinto та співавтори показали високий ступінь антибактеріальної активності стосовно *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia coli* нанокompозитних матеріалів на основі хітозану з додаванням наноколоїдного срібла. При цьому ступінь активності не залежав від водорозчинності інгредієнтів, проте мав залежність від відсотка срібла та був найвищий при концентрації останнього в матеріалі 1% [40, 182]. Додаткове уведення оксиду цинку до срібловмісних мембран дозволяє значно підвищити антибактеріальні властивості матеріалу щодо *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Penicillium*, *Aspergillus* та *Rhizopus* [69].

Одночасне введення до покриттів на основі хітозану прокоагулянтів (поліфосфату) та іонів срібла дозволило значно зменшити час кровотечі, збільшити адгезію тромбоцитів на поверхні рани та значно зменшити мікробну контамінацію ушкодженої поверхні [80].



Окремим видом матеріалів для закриття ран є губки на основі хітозану. Цей матеріал є гідрофільним, здатний до високого ступеня абсорбції рідини, проникний для клітин, проте виявляє низькі механічні характеристики [49]. Існують також дослідження щодо введення до складу губки антимікробних препаратів [142] та оксиду цинку [145]. F.–L. Мі та співавторами описаний синтез хітозанової губки з асиметричною пористістю, що дозволяє контролювати вивільнення рідини з рани та підтримувати оптимальну швидкість газообміну, запобігаючи при цьому проникненню в рану патогенних мікроорганізмів [96].

Таким чином, сучасна хірургія має цілий арсенал матеріалів для лікування ран різної етіології, глибини та ускладнень. Вибір засобу для ведення рани при цьому ґрунтується на властивостях покриття, особливостях перебігу захворювання та економічній спроможності пацієнта. На жаль, більшість наявних в Україні сучасних перев'язувальних матеріалів є закордонними та мають високу ціну, що обмежує їх застосування в клінічних умовах. Єдиним виходом із цієї ситуації є розробка вітчизняних матеріалів на основі дешевих похідних із застосуванням простих технологій синтезу. Перспективним матеріалом при цьому є хітозан та його похідні, на основі яких можуть бути створені полімерні композитні матеріали з широким спектром властивостей для застосування в хірургії, комбустіології та відновній медицині.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчення морфофункціональних особливостей регенерації шкіри після хімічного опіку за умов використання хітозанової плівки проведене на 180 білих лабораторних щурах-самцях трьох вікових груп: молодого (3 місяці), зрілого (9 місяців) та старечого (22 місяці) віку.

Перед початком експерименту тварин оглядали, враховуючи їх локомоторну активність та стан шкірного покриву. Після відбракування щурів з аномаліями поведінки тварин вводили в експеримент. Під час дослідів у віварії підтримувалася постійна температура, тварини отримували належний догляд. 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).

Під ін'єкційним кетаміновим наркозом (10 мг на 1 кг маси тварини внутрішньом'язово) щура фіксували до предметного столика за чотири кінцівки. Додаткова фіксація потрібної ділянки шкіри забезпечувалася шляхом опускання пластинки з отвором діаметром 1,6 см уздовж осі штатива. Попередньо поголену шкіру міжлопаткової ділянки обробляли 40 % розчином етилового спирту з метою профілактики інфікування поверхні рани. На оголену поверхню проводили аплікацію марлі змоченої 10% розчином азотної кислоти упродовж 25 секунд, що дозволяє досягти опіку IIIa ступеня (рис. 2.1). Контроль глибини ураження здійснювався гістологічно в день виведення тварини з експерименту.

Залежно від віку та способу впливу на процеси регенерації шкіри після нанесення опіку всі тварини були поділені на 2 серії – контрольну та експериментальну. В середині кожної серії тварини були поділені на вікові групи (табл 1).

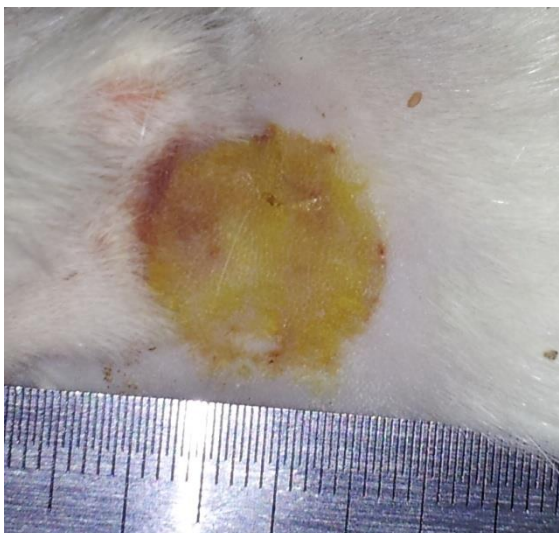


Рисунок 2.1 – Ділянка шкіри щура зі змодельованим кислотним опіком

Таблиця 2.1

**Розподіл тварин за серіями**

Серія тварин		Термін забору матеріалу після травми, дні				
		1	3	7	14	21
Контроль	молоді (К1)	6	6	6	6	6
	зрілі (К2)	6	6	6	6	6
	старі (К3)	6	6	6	6	6
Експеримент	молоді (Е1)	6	6	6	6	6
	зрілі (Е2)	6	6	6	6	6
	старі (Е3)	6	6	6	6	6

Тваринам контрольної серії проводили стандартне лікування хімічних опіків із застосуванням стерильних марлевих пов'язок, які змінювали щоденно.

Експериментальній серії тварин для лікування пошкоджень шкіри використовували гідрогель хітозану, який накладали на пошкоджені ділянки із заміною плівки 1 раз на день. Використання цього матеріалу дозволяє спостерігати за станом травмованої поверхні без зміни пов'язки та забезпечує оптимальне мікрооточення рани через здатність матеріалу утримувати рідину, бути проникним для кисню та перешкоджати контамінації поверхні опіку мікроорганізмами.

Тварин обох серій виводили з експерименту шляхом передозування наркозу (70 мг/кг) через 1, 3, 7, 14 та 21 день після травми, що дозволяє простежувати особливості загоєння шкіри на всіх стадіях регенерації.

Для вивчення морфофункціональних особливостей регенерації пошкоджень шкіри у тварин контрольної та експериментальної серій використовували такі методи дослідження:

- 1. Планіметрія поверхні рани.** Після виведення тварин з експерименту травмовану ділянку фотографували за допомогою цифрового фотоапарата Nikon D3200 з отриманням зображень із роздільною здатністю 1920x1080. Для одержання реального зображення разом із поверхнею дефекту фотографували лінійку з мінімальною шкалою в 1 мм. Після отримання та збереження зображення на жорсткому диску проводили вимірювання загальної площі дефекту, визначали відсоток некротизованих тканин, грануляцій та епітелізованих ділянок із використанням програми «SEO Image lab 1.0». 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).
- 2. Цитологічне дослідження.** Для цитологічного дослідження проводили забір матеріалу з ранової поверхні методом «мазків-відбитків», а також

зскрібок методом «поверхневої біопсії» залежно від фази перебігу ранового процесу. В кожному терміні дослідження виготовляли препарати після видалення кірочок та некротичних тканин із поверхні рани за допомогою стерильного марлевого тампона, змоченого у фізіологічному розчині. Відбитки одержували шляхом легкого притиснення стерильного предметного скла до ранової ділянки, щоб виключити можливість деформації клітин, які при цьому знімаються. Зскрібки одержували обережним зіскрібанням поверхневого шару рани предметним склом чи хірургічним скальпелем, при появі краплин крові взяття матеріалу припинялося. Одержаний матеріал переносили на предметне скло та рівномірно розподіляли тонким шаром. Отримані препарати висушували на повітрі, фіксували в метиловому спирті 5 - 10 хвилин або 15 - 20 хвилин у суміші Никифорова і забарвлювали за Романовським–Гімзою. В отриманих препаратах враховувались загальна кількість бактеріальних клітин та лейкоцитів у полі зору (зокрема відсотковий вміст лейкоцитів з ознаками деструкції), відсотковий вміст нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, плазматичних клітин, фібробластів та епітеліальних клітин). Підрахунок цитограм проводили на 200 клітинах.

- 3. Гістологічне дослідження біопсії.** Біопсію ранової поверхні проводили в її центральних та периферичних відділах (5 шматочків із кожної рани). 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. Потім виготовлялися серійні зрізи товщиною 5–7 мкм, які після депарафінізації забарвлювали гематоксилін-еозином [226]. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа «Olympus BH 2» з цифровою відеокамерою DCM 510 5,0 pixels.
- 4. Морфометрія гістологічних препаратів.** Зображення, збережені на жорсткому диску обробляли за допомогою прикладної програми для морфометрії "SEO Image Lab 1.0" з оцінюванням таких параметрів: відносної площі стромального набряку, відносної площі судин дерми, середнього

діаметра судин дерми, відносної площі судин грануляційної тканин та середнього діаметра судин грануляційної тканини.

- 5. Мікробіологічне дослідження поверхні рани.** Для мікробіологічного дослідження мікрофлори рани використовували змиви, які засівали на різні спеціальні живильні середовища (кров'яний агар, жовтково-сольовий агар, середовище Ендо, агар Цейслера, живильне середовище «Псевдомонас АПС-20» та середовище Сабуро з метою виділення й ідентифікації виділених мікроорганізмів.
- 6. Статистичний метод.** Одержані дані обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програм для обробки статистичної інформації IBM SPSS Statistics 21 та GraphPad software. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки ( $M$ ), її дисперсії та похибки середньої ( $m$ ). Достовірність розходження експериментальних і контрольних даних оцінювали з використанням критерію Стюдента, достовірною вважали ймовірність похибки, яка менше чи дорівнює 5% ( $p \leq 0,05$ ). Перед проведенням порівняння отриманих даних, для з'ясування типу розподілу даних використовували тест Колмогорова-Смирнова.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Морфофункціональні зміни шкіри тварин молодого віку за умов хімічного опіку

Під дією кислоти на поверхні шкіри утворюється некротична кірка, що обмежує ушкодження сусідніх тканин. Через 1 добу після завдання травми площа некротизованих ділянок становить  $52,86 \pm 0,16\%$ , що складає основну частину опікової поверхні. У перший термін спостереження завдяки кислотному опіку шкіра виявляє підсушену поверхню. Але вже через 3 доби після завдання травми відзначається формування серозного ексудату, через який відбувається втрата електролітів, води та білків. При цьому відносна площа некротизованих ділянок становить  $31,22 \pm 0,12\%$ . У цей же термін спостерігається початок формування перших грануляцій, які візуалізуються біля крайової зони опіків. Їх відносна площа в цей термін спостереження становить лише  $12,06 \pm 0,08\%$ , проте цей показник свідчить про високі регенераторні можливості шкіри в осіб молодого віку. Через 1 тиждень після опіку відбувається початок переходу фази запалення у фазу регенерації, що супроводжується зменшенням відносної площі некротизованих тканин до  $16,04 \pm 0,05\%$ , які спостерігаються переважно в центрі рани. Відсоток грануляцій, що поширюються з периферії до центру рани, зростає до  $32,75 \pm 0,21\%$ . У цей термін спостереження на поверх периферійних грануляцій спостерігається епітелізація рани, площа епітелізації при цьому становить  $5,76 \pm 0,03\%$ .

Через 14 днів після завдання травми площа некрозу різко зменшується, становлячи лише  $6,11 \pm 0,15\%$  від загального об'єму тканин. Відбувається також поступове зменшення площі грануляцій до  $24,54 \pm 0,16\%$ , які заміщуються епітеліальною тканиною з відсотковою площею  $39,54 \pm 0,28\%$ . Таким чином можна визначити цей термін як початок фази епітелізації. Вже через 21 добу після нанесення кислотного дефекту не спостерігається некротизованих ділянок (рис. 3.1), площа грануляцій становить лише  $7,05 \pm 0,11\%$  при відносній епітелізації  $89,86 \pm 0,36\%$ .

Загалом можна відзначити прискорення процесів загоєння рани з 14-ї доби, коли площа дефекту зменшується до  $1,02 \pm 0,02 \text{ см}^2$  з  $1,78 \pm 0,09 \text{ см}^2$  у перший термін і

вже через 21 добу становить  $0,54 \pm 0,01$  см<sup>2</sup>. При цьому початок епітелізації починається на  $11,60 \pm 0,24$  добу, а швидкість загоєння рани становить  $0,72 \pm 0,04$  мм/добу.

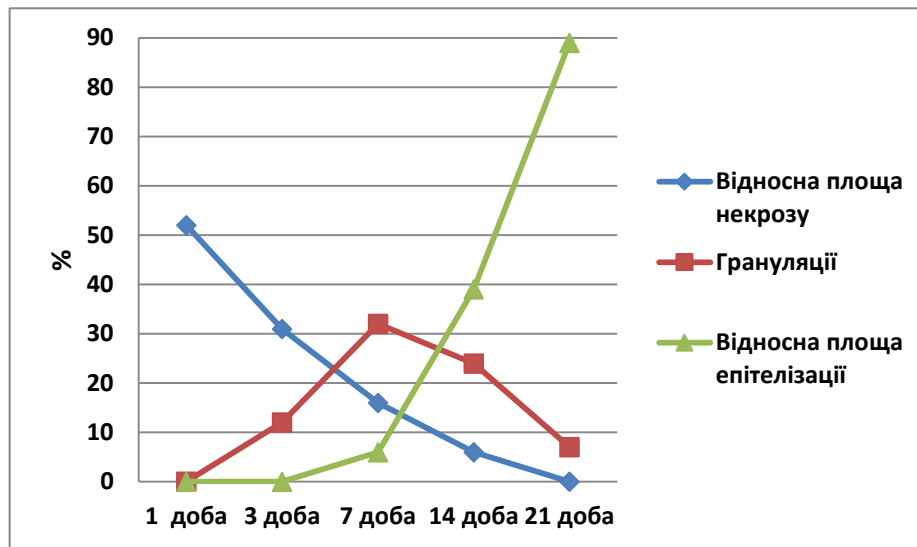


Рисунок 3.1 - Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів молодого віку

Під час вивчення цитологічної картини поверхні рани методами поверхневих та глибоких мазків у першу добу спостереження відмічається наявність  $98 \pm 0,67$  лейкоцитів у полі зору. Більш високі показники реєструються в периферичних, менш ушкоджених зонах порівняно з ділянками некрозу. Таким чином, запальна реакція в хімічному дефекті шкіри розвивається переважно з периферичних ділянок. У відсотковому співвідношенні переважають нейтрофіли –  $87,8 \pm 0,24\%$  та лімфоцити –  $9,1 \pm 0,09\%$ . Також у мазках можна розрізнити поодинокі моноцити, відсоток яких становить  $1,3 \pm 0,05\%$ .

Через 3 доби після завдання кислотної травми відзначається зростання вмісту лейкоцитів, кількість яких становить  $104,2 \pm 2,2$  у полі зору. При цьому відмічаються збільшення кількості нейтрофілів до  $91,1 \pm 0,28\%$  та зменшення вмісту лімфоцитів і моноцитів відповідно до  $7,2 \pm 0,12\%$  та  $0,6 \pm 0,03\%$ . В цей же термін спостереження відзначається поява макрофагів, які забезпечують фагоцитоз некротизованих ділянок шкіри та патогенних мікроорганізмів, що колонізують поверхню дефекту (Рис. 3.2).



Також спостерігається наявність поодиноких ендотеліоцитів, що свідчить про формування грануляційної тканини (рис. 3.3). Таким чином, через 3 доби після нанесення хімічного опіку спостерігається розгортання запальної реакції в ділянці рани, що забезпечує початок регенераційних процесів.

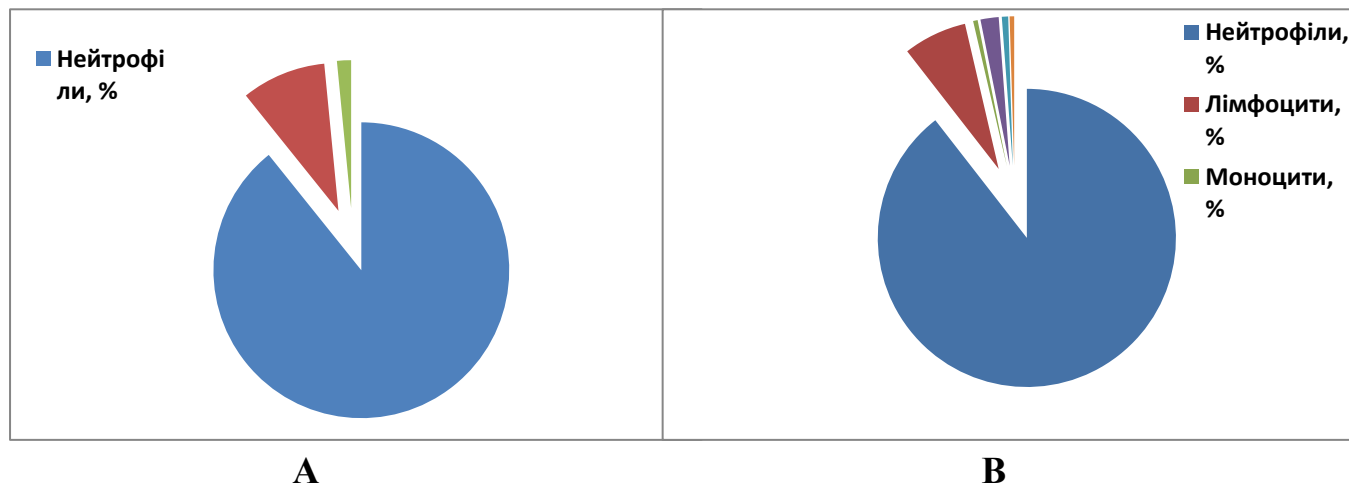


Рисунок 3.2 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку

Через 7 днів після завдання травми шкіри відзначається зменшення кількості лейкоцитів у поверхневих та глибоких мазках більше ніж у 2 рази – до  $48,1 \pm 0,31$  у полі зору, що свідчить про перехід процесу загоєння у фазу грануляції. Разом з цим зменшується кількість нейтрофілів до  $32,7 \pm 0,17\%$  та лімфоцитів – до  $6,3 \pm 0,08$ . Різко зростає вміст макрофагів та полібластів – до  $14,8 \pm 0,07\%$  та  $7,4 \pm 0,08\%$ , що є свідченням переважання макрофагально-гістіоцитарного компонента в рані (рис. 3.4).

З'являються фібробласти, які синтезують позаклітинний матрикс грануляційної тканини, їх рівень становить  $9,2 \pm 0,11\%$ . На периферичних ділянках рани спостерігаються ендотеліоцити та поодинокі епітеліоцити, що є свідченням початку крайової епітелізації. Поява цих клітин по краях дефекту свідчить про їх походження з неушкоджених шарів шкіри.

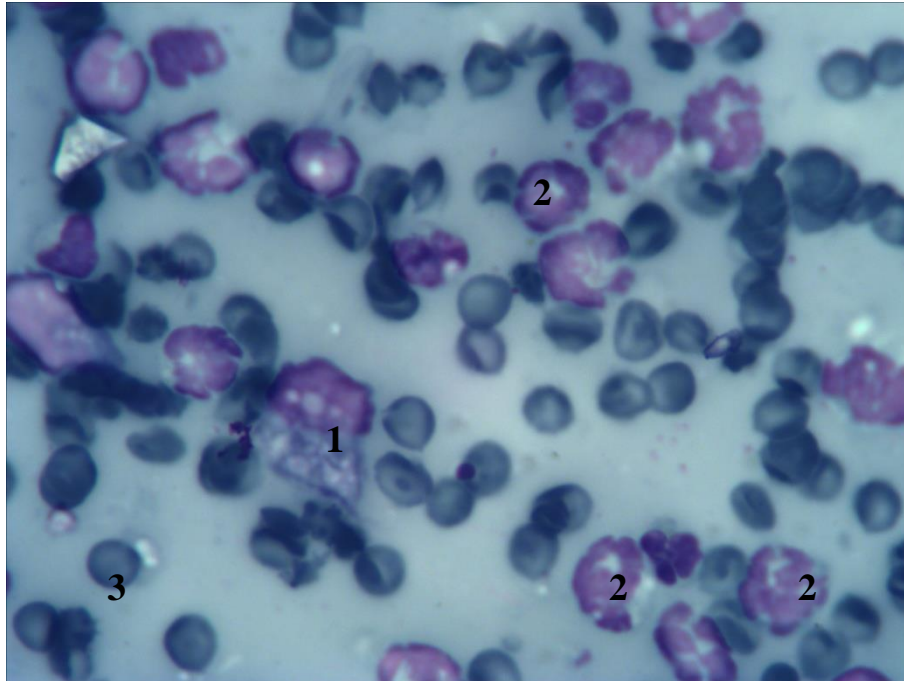


Рисунок. 3.3 – Мазок із поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 3 доби після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським – Гімзою. Зб. Х300:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл,
3. Еритроцит.

Через 14 днів після травми не спостерігається істотних змін цитологічної картини порівняно з попереднім терміном спостереження, що є свідченням розгортання фази грануляції. Вміст лейкоцитів зменшується до  $29,9 \pm 0,12$  у полі зору, нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів – відповідно до  $26,8 \pm 0,12\%$ ,  $3,2 \pm 0,06\%$  та  $0,9 \pm 0,07\%$ . Разом з тим майже удвічі зростає вміст макрофагів та фібробластів – відповідно до  $21,9 \pm 0,11\%$  та  $16,3 \pm 0,02\%$ . Більшість макрофагів знаходяться у фазі активного фагоцитозу, переповнені детритом, трапляються гинучі клітини та з незавершеним фагоцитозом. Фібробласти мають ознаки активного синтезу, що забезпечує розвиток сполучної тканини в рані. Кількість ендотеліоцитів перебуває на рівні попереднього терміну спостереження. У мазках із крайової зони спостерігається значна кількість епітеліоцитів з ознаками підвищеної проліферативної активності. Ці клітини здебільшого формують щільні групи по 10–15 у кожній. Таким чином, через 14 днів після травми в цитограмах із поверхні рани спостерігається наявність ознак фази грануляції та епітелізації.

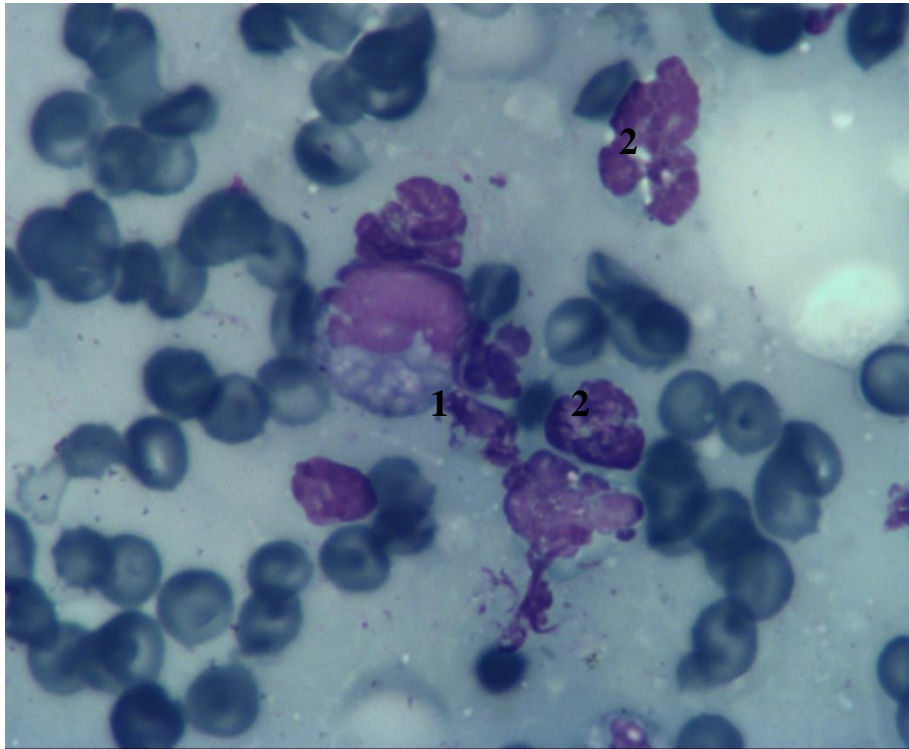


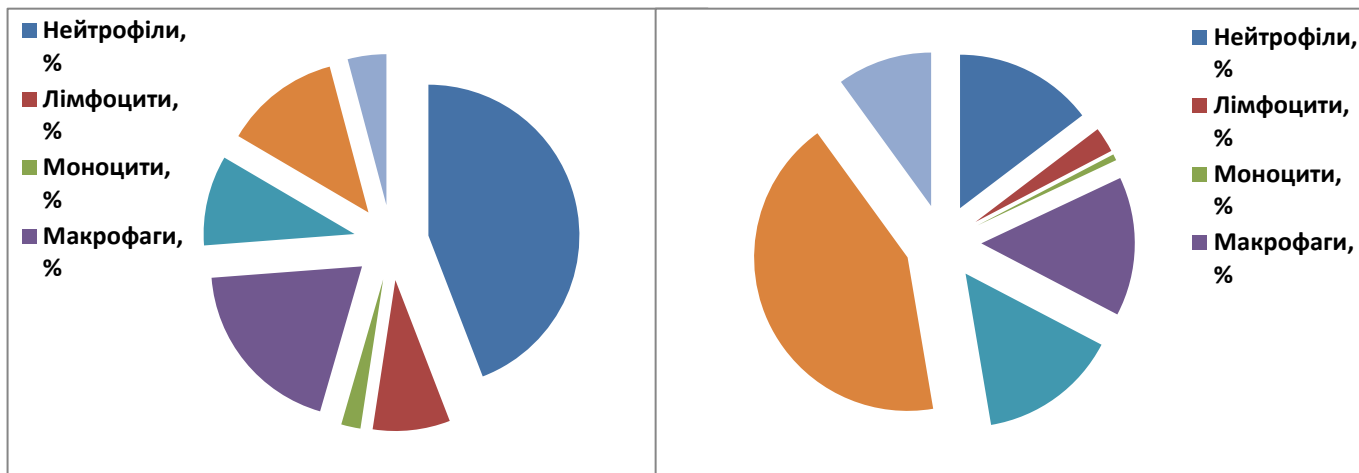
Рисунок 3.4 – Мазок із поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 7 діб після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським – Гімзою. Зб.. X300:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл.

Через 21 добу після нанесення хімічного опіку в цитограмах переважають елементи сполучної тканини – фібробласти, епітеліоцити, ендотеліоцити та полібласти (рис. 3.5). Їх відсотковий вміст дорівнює відповідно  $32,9 \pm 0,23\%$ ,  $7,4 \pm 0,05\%$  та  $11,2 \pm 0,08\%$ . Епітеліоцити в мазках розміщені пластами, ознаки проліферативної активності виражені меншою мірою, ніж у попередній термін спостереження. Лейкоцитарне навантаження майже зникає – в полі зору виявляється не більше ніж  $11,8 \pm 0,03$  клітин. Рівень нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів як прозапальних клітинних елементів становить лише  $11,5 \pm 0,04\%$ ,  $2,0 \pm 0,04\%$  та  $0,2 \pm 0,03\%$ . Загалом цитологічна картина на 21-шу добу спостереження свідчить про остаточне завершення запальної реакції та майже повну епітелізацію дефекту.

На гістологічних препаратах ушкодженої ділянки шкіри через 1 добу після нанесення кислотного опіку спостерігається виражена судинна реакція у вигляді повнокров'я судин малого та середнього калібрів, периваскулярного набряку та стазів

у судинах мікроциркуляторного руслу. Крім того визначається виражений стромальний набряк глибоких шарів ушкоджених ділянок. На поверхні дефекту формується некротичний струп, що обмежує зону ураження. Під струпом помітна виражена лейкоцитарна інфільтрація, представлена в основному нейтрофілами та поодинокими лімфоцитами (рис. 3.6).



**А**

**В**

Рисунок 3.6 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 7 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку

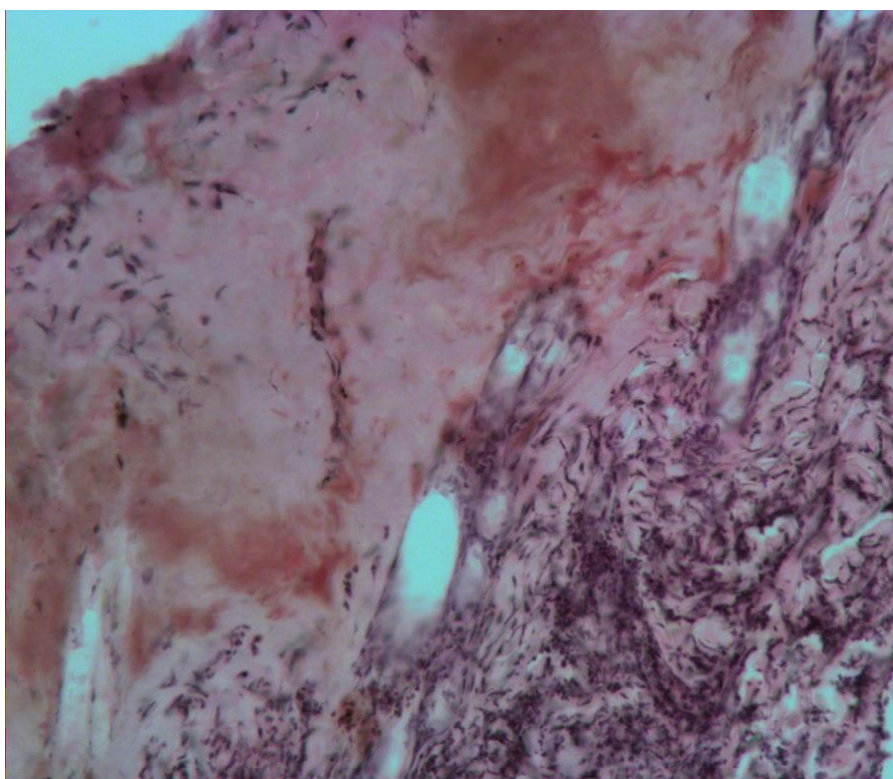


Рисунок 3.6 – Дефект шкіри щура молодого віку на 1-шу добу після нанесення кислотного опіку. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. Х200

Через 3 дні після завдання травми відзначається поширення стромального набряку на поверхневі шари шкіри, що свідчить про розвиток судинної реакції. Судини глибоких шарів повнокровні, зберігається периваскулярний набряк і стаз еритроцитів у судинах мікроциркуляторного русла. На відміну від попереднього терміну спостереження відбувається поширення зазначених змін у поверхневі шари шкіри та наявний набряк у неушкоджених ділянках. На поверхні дефекту сформований некротичний струп відмежовується від прилеглих тканин нейтрофільно–лімфоцитарним валом. Загалом відзначається виражена лейкоцитарна інфільтрація усіх шарів ушкодженої ділянки з переважанням нейтрофілів та лімфоцитів. У цей термін спостерігається міграція в зону дефекту макрофагів, проте їх кількість є незначною. Функція макрофагів полягає у фагоцитозі ушкоджених тканин і мікроорганізмів, що заселяють уражену поверхню, тому більшість із клітин переповнені детритом та знаходяться у фазі активного фагоцитозу. В поверхневих ділянках відмічається наявність поодиноких моноцитів та полібластів. Загалом гістологічна картина на 3-тю добу після травми свідчить про наявність вираженої запальної реакції, що є першим етапом регенерації ушкодженої ділянки (рис. 3.7).

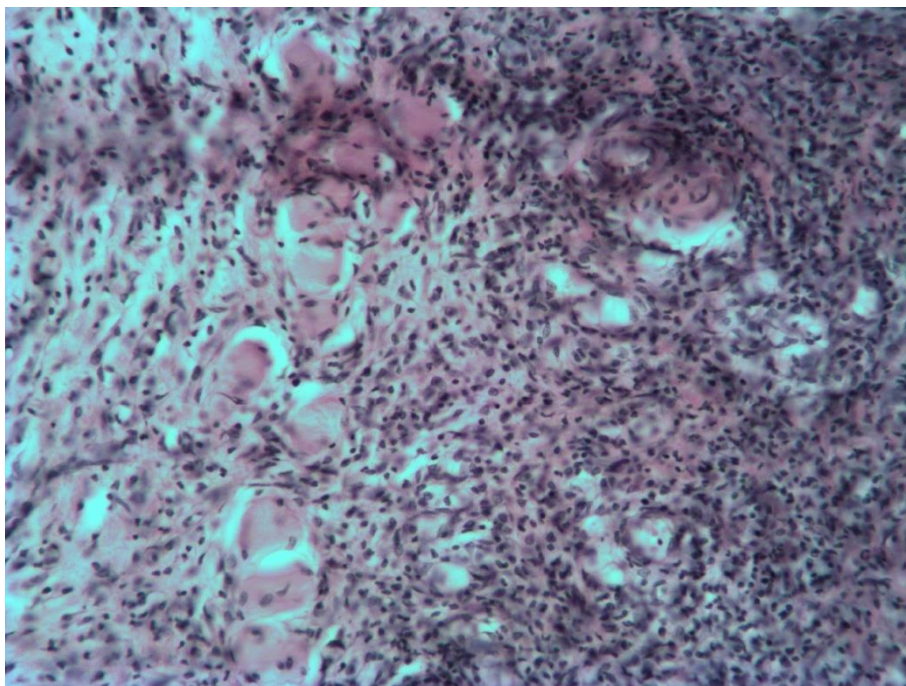


Рисунок 3.7 - Дефект шкіри щура молодого віку на 3 добу після нанесення кислотного опіку. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. X200

Через 7 днів спостереження відзначається зменшення активності запальної реакції та зміна характеру клітин інфільтрації. Зменшується відсоток нейтрофілів та лімфоцитів на фоні зростання кількості макрофагів і моноцитів. Особливо виражена макрофагальна реакція біля поверхні дефекту. Більшість макрофагів знаходяться у фазі активного фагоцитозу, спостерігаються поодинокі гинучі клітини. Клітини інфільтрату відмежовують залишки некротичного струпа від прилеглих тканин, локалізуючи таким чином запалення. У глибоких шарах дефекту відзначається зменшення як стромального, так і периваскулярного набряку, що свідчить про зниження активності судинної реакції. Судини великого та середнього калібрів втрачають повнокров'я, проте відмічаються поодинокі стази в судинах мікроциркуляторного русла. На поверхні дефекту, особливо у периферичній зоні відзначається поява грануляційної тканини, представленої невпорядкованими прошарками сполучної тканини та великою кількістю судин мікроциркуляторного русла. Початок розвитку грануляційної тканини з периферії може бути свідченням міграції фібробластів та ендотеліоцитів із неушкоджених ділянок шкіри.

Уже через 14 днів після травми відзначається істотне зменшення як судинної, так і інфільтративної реакції, яка з нейтрофільно-лімфоцитарної трансформується в макрофагально-гістіоцитарну. Периваскулярний та стромальний набряк зберігається лише біля поверхні дефекту, підтримуючи процеси запалення. Макрофаги візуалізуються також переважно біля поверхні, забезпечуючи фагоцитоз змертвілих тканин та мікроорганізмів. Ушкоджені ділянки шкіри покриваються грануляційною тканиною, що поширюється з периферичних до центральних зон рани. Грануляції добре васкуляризовані та представлені пухкою сполучною тканиною з невпорядкованими тяжами фібрил і фібробластів, які мають ознаки секреторної активності (рис. 3.8). На периферії дефекту відбувається початок епітелізації рани за рахунок епітеліоцитів, що мігрують з неушкоджених ділянок шкіри. Клітини епітелію із ознаками проліферативної активності у вигляді збільшення розмірів ядер та просвітлення їх матриксу.

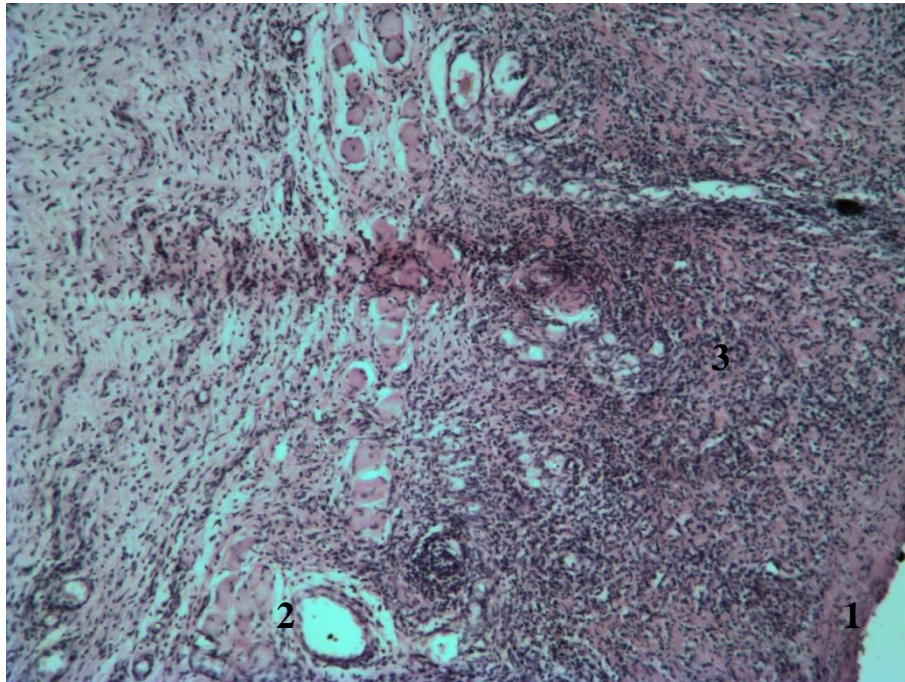


Рисунок 3.8 – Дефект шкіри щура молодого віку на 14-ту добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Ділянка епітелізації,
2. Периваскулярний набряк,
3. Грануляційна тканина.

Через 21 день після нанесення хімічного опіку шкіри відзначається майже повна її епітелізація за винятком центральних зон, представлених грануляційною тканиною. Під шаром епітелію спостерігається формування сполучної тканини з нерівномірно орієнтованими фібрилами, що надає їм грубоволокнистого компонента. У матриксі сполучної тканини візуалізуються фібробласти, поодинокі з яких мають ознаки синтетичної активності. Загалом препарати шкіри в цей термін характеризуються завершенням процесів регенерації з формуванням рубцевої тканини (рис. 3.9). Набряк та інфільтрація в досліджуваних препаратах відсутні, лише в центральних ділянках рани відзначається наявність поодиноких макрофагів.

Морфометрія гістологічних препаратів свідчить про значний розвиток стромального набряку, відсоток якого становить на 1-шу добу спостереження  $25,6 \pm 0,65\%$  та майже не зменшується через 3 доби, становлячи  $23,11 \pm 1,04\%$  від загальної площі препаратів. Через 7 та 14 днів відбувається зменшення набряку

відповідно до  $15,64 \pm 1,23\%$  та  $8,65 \pm 0,26\%$ , що свідчить про нормалізацію кровопостачання та зменшення запальної реакції.

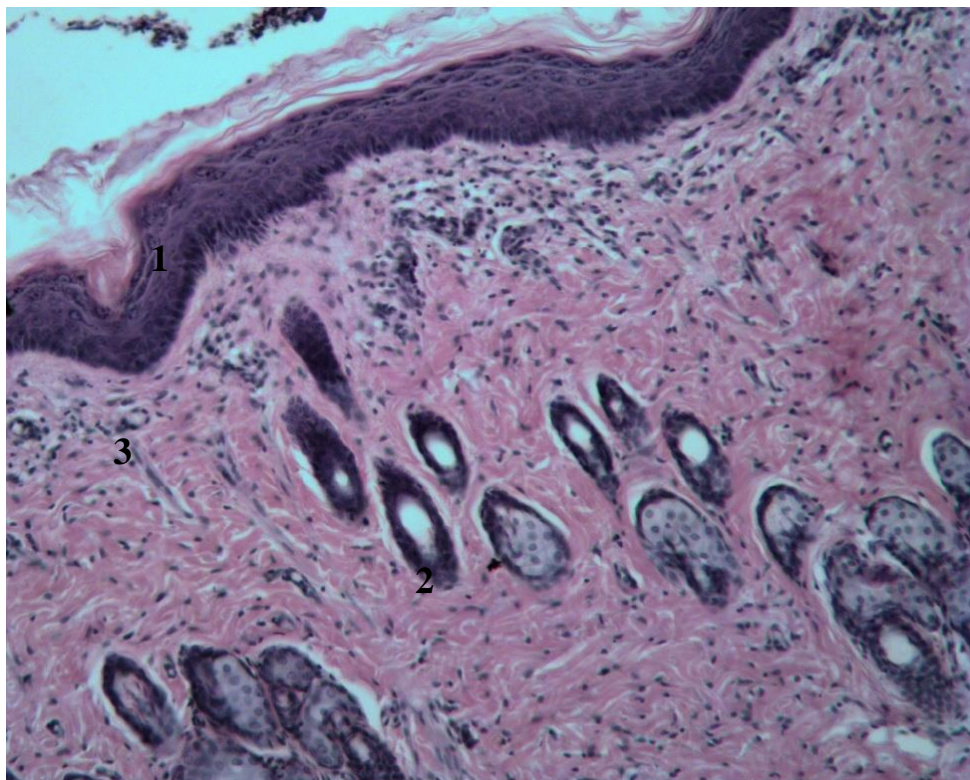


Рисунок 3.9 – Дефект шкіри щура молодого віку на 21 добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X 150:

1. Епітелізована поверхня шкіри,
2. Залози,
3. Судини дерми.

В останній термін спостереження в гістологічних препаратах не відзначається стромального та периваскулярного набряків. Судинна реакція шкіри проявляється повнокров'ям судин середнього та великого калібрів, що призводить до збільшення відносної площі судин дерми та середнього діаметра судин на 1-шу добу спостереження до  $8,5 \pm 0,12\%$  та  $27,4 \pm 1,93$  мкм. Через 3 доби ці показники дещо зменшуються та складають відповідно  $8,2 \pm 0,04\%$  та  $23,28 \pm 0,78$  мкм. У подальші терміни спостерігається зменшення даних показників (рис. 3.10), які через 21 день після травми становлять  $6,74 \pm 0,05\%$  та  $17,52 \pm 0,03$  мкм. Загалом площа судин дерми є найбільш сталим показником, незважаючи на їх повнокров'я.



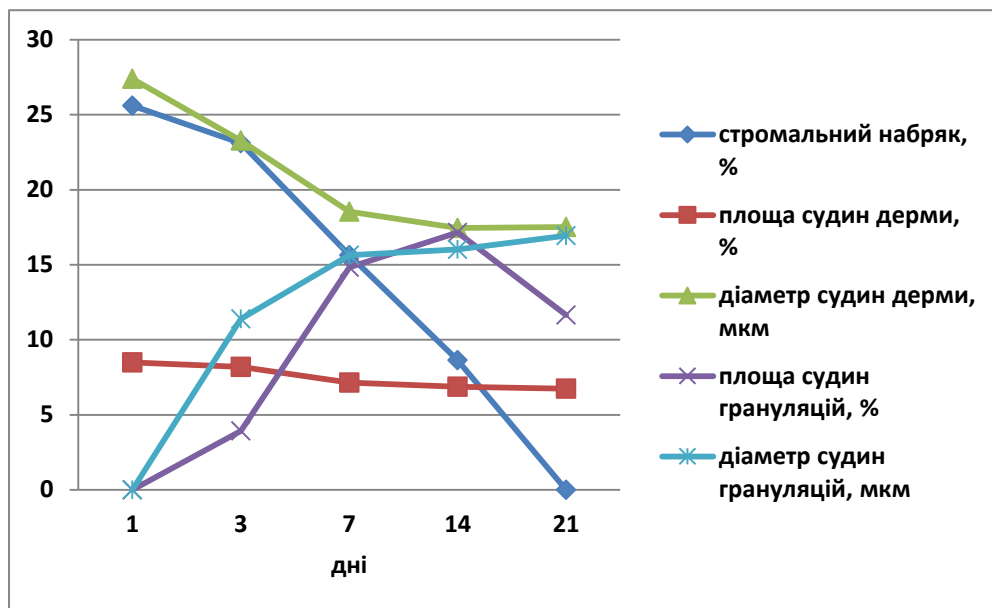


Рисунок 3.10 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин молодого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку

Формування грануляційної тканини супроводжується її васкуляризацією, що зростає в перші терміни спостереження. Так, відносна площа судин грануляційної тканини та їх середній діаметр збільшується з  $3,93 \pm 0,05\%$  та  $11,4 \pm 0,04$  мкм на 3-тю добу до  $17,15 \pm 0,21\%$  та  $16,03 \pm 0,11$  мкм на 14-ту добу спостереження. Зменшення площі грануляційної тканини та формування сполучної тканини призводять до зменшення відносної площі судин до  $11,64 \pm 0,15\%$  при незначному збільшенні їх діаметра до  $16,94 \pm 0,08$  мкм.

Вивчаючи мікробіологічні показники рани тварин молодого віку, відзначається контамінація її поверхні уже з першої доби спостереження. При цьому з рани виділяються як умовно-патогенні, так і патогенні бактерії та гриби. Так, більше ніж половина від виявлених мікроорганізмів становлять умовно-патогенні бактерії *Staphylococcus* sp. –  $\leq 80$  КУО та *Streptococcus* sp. –  $\leq 90$  КУО. Крім того спостерігається наявність грибів роду *Candida* –  $\leq 50$  КУО та *Aspergillus* –  $\leq 60$  КУО.

Уже на 3-тю добу після завдання травми відзначається стрімке зростання кількості мікрофлори рани, при цьому різко збільшується вміст саме патогенних мікроорганізмів. В цей термін у рані переважають гриби *Candida* sp. –  $\leq 10^4$  КУО та *Aspergillus* sp. –  $\leq 10^3$ . Також відзначається поява *Vacillus cereus* кількістю  $10^3$  КУО,

що не виділялися в перший термін спостереження. Кількість мікроорганізмів роду *Staphylococcus* та *Streptococcus* коливається в межах  $10^3$  КУО. Таким чином, через 3 доби після нанесення опіку відзначається зростання вмісту усіх мікроорганізмів на поверхні рани, проте переважають патогенні бактерії та гриби, які у відсотковому співвідношенні становлять більш ніж 85% (рис. 3.11). Значне збільшення контамінації поверхні рани можливо пов'язане з переважанням ексудативних процесів на поверхні опіку, що створює оптимальні умови для росту мікроорганізмів.

Через 7 днів спостереження на поверхні рани переважають патогенні гриби та бактерії. Відзначається зростання кількості *Bacillus cereus* та *Staphylococcus* sp. При цьому кількість *Streptococcus* sp. зменшується до  $10^2$  КУО, що може бути викликане антагонізмом із бактеріями роду *Staphylococcus*. Загалом рівні мікроорганізмів роду *Candida*, *Bacillus cereus* та *Aspergillus* перевищують 50% від загальної кількості бактерій та грибів, виділених із поверхні рани.

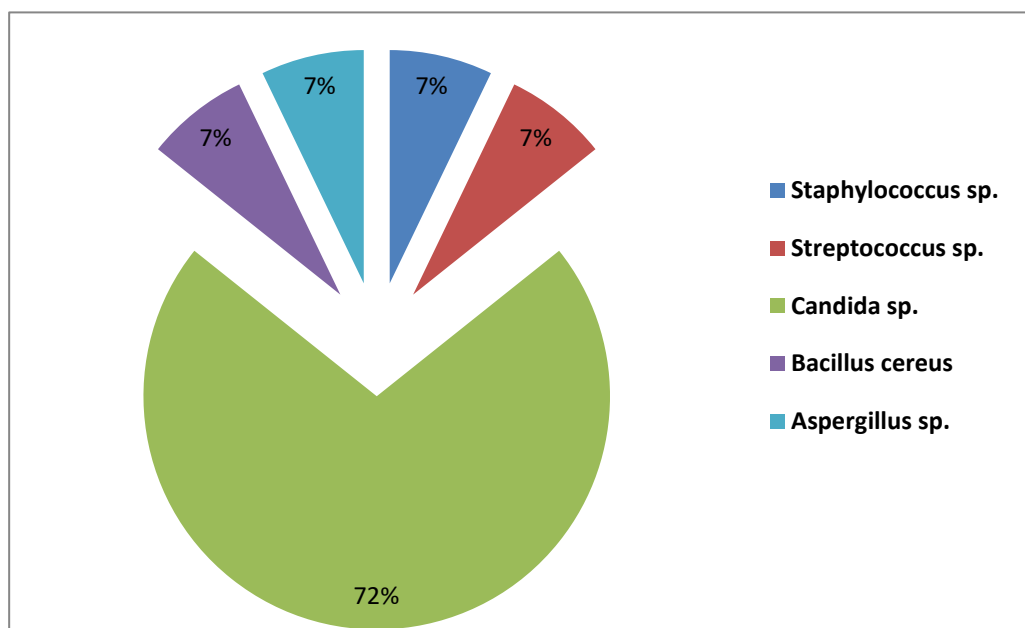


Рисунок 3.11 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів із поверхні рани щура молодого віку через 3 доби після нанесення кислотного опіку

Через 14 днів після травми відзначається зменшення мікробного навантаження на поверхню рани, обумовлене, з одного боку, активізацією місцевих імунних реакцій, зокрема за рахунок макрофагів, а з іншого боку, зменшенням субстрату для росту бактерій за рахунок початку епітелізації. Так, рівні *Staphylococcus* sp., *Candida*

sp. та *Aspergillus* sp. зменшився до  $10^3$  КУО. Проте кількість *Staphylococcus* sp. та *Bacillus cereus* залишилась на рівні  $\leq 10^3$  та  $\leq 10^4$  КУО.

Уже через 21 день після завдання травми відзначається стрімке зменшення бактеріальної та грибової контамінації поверхні рани. Як бачимо з графіка (рис. 3.12), переважну кількість мікроорганізмів складають бактерії роду *Staphylococcus*, які є одними з представників нормальної мікрофлори поверхні шкіри у щурів. При цьому, незважаючи на значне зменшення кількості, в рані залишаються представники усіх видів бактерій та грибів, що виділялися в попередні терміни спостереження.

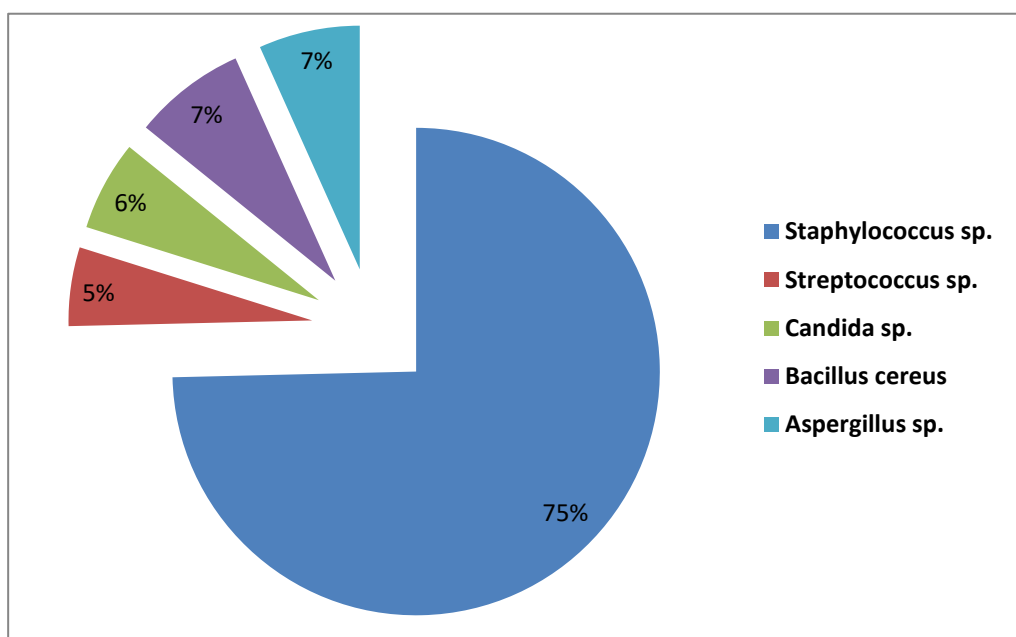


Рисунок 3.12 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура молодого віку через 21 добу після нанесення кислотного опіку.

### **3.2. Морфофункціональні зміни шкіри тварин зрілого віку за умов хімічного опіку**

У тварин зрілого віку загальна площа некрозу на поверхні ушкодженої ділянки через 1 добу після завдання травми становить у середньому  $54,41 \pm 0,23\%$ , складаючи при цьому основну масу поверхні рани. Проте вже через 3 доби на периферії ушкодженої поверхні з'являються грануляції, площа яких становить  $9,13 \pm 0,04\%$ . Відносна площа некротично змінених ділянок шкіри в цей термін спостереження становить  $43,56 \pm 0,17\%$ , що на  $19,95\%$  ( $p \leq 0,05$ ) менше, ніж у попередній термін спостереження.

Уже через 7 днів після нанесення кислотного опіку відзначається значне зменшення площі некрозу на поверхні рани. Некротичні маси зберігаються в основному в центральних відділах дефекту та складають лише  $17,49 \pm 0,11\%$  від загальної площі рани. Грануляційна тканина займає периферійне положення, але виявляє тенденцію до росту в центральні зони рани. Порівняно з попереднім терміном спостереження площа грануляцій зростає більше ніж у 3 рази та становить у середньому  $38,49 \pm 0,24\%$ . На відміну від молодих тварин у щурів зрілого віку спостерігається незначна епітелізація поверхні ушкодження через 7 днів після завдання травми, що становить лише  $2,44 \pm 0,06\%$  від загальної площі рани (рис. 3.13).

Проте вже через 14 днів спостереження відзначається значне зменшення некрозу поверхні рани, площа якого становить лише  $8,23 \pm 0,09\%$ , що майже у 2 рази менше від попереднього терміну спостереження. Залишки некротичних мас зберігаються лише в центральних зонах травми. Грануляційна тканина візуалізується по всій поверхні дефекту і становить  $22,83 \pm 0,09\%$ , що на  $23,57\%$  ( $p \leq 0,05$ ) менше від попереднього терміну спостереження. Зменшення площі грануляцій відбувається за рахунок початку активної епітелізації поверхні дефекту, що візуалізується в крайових зонах рани. Площа епітелізованих ділянок становить при цьому  $34,21 \pm 0,41\%$ .

Через 21 добу після нанесення кислотного опіку не спостерігається некротично змінених ділянок шкіри та грануляцій, проте візуалізується формування рубцево-змінених ділянок на місці ушкодження. Поверхня рани добре епітелізована, площа епітелію становить при цьому  $75,86 \pm 0,36\%$ .

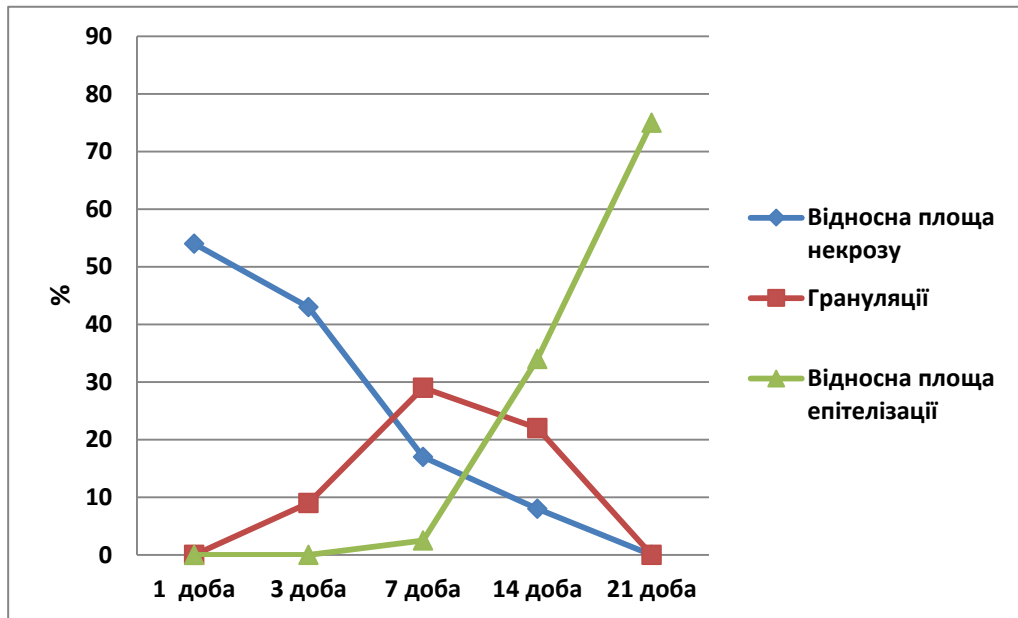


Рисунок 3.13 – Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів зрілого віку

Загалом початок процесів загоєння рани відзначається з 14-ї доби спостереження при зменшенні площі дефекту із  $1,75 \pm 0,04 \text{ см}^2$  до  $1,06 \pm 0,03 \text{ см}^2$ . Проте навіть через 21 добу після травми площа рани становить  $0,68 \pm 0,05 \text{ см}^2$ . Початок епітелізації поверхні дефекту спостерігається на  $12,10 \pm 0,15$  доби, майже на 1 добу пізніше, ніж у тварин молодого віку. Повна епітелізація поверхні дефекту збігається з терміном у тварин молодого віку і становить  $20,95 \pm 0,18$  доби при швидкості загоєння рани  $0,71 \pm 0,06 \text{ мм/добу}$ .

Цитологічне дослідження поверхневих та глибоких мазків із поверхні дефекту тварин зрілого віку через 1 добу після травми показало незначну клітинну реакцію, що пов'язано в першу чергу з формуванням струпа на поверхні рани. Проте вже через 1 добу спостерігається наявність лейкоцитів кількістю  $86,98 \pm 0,39$  в полі зору. Переважними елементами мазків є нейтрофіли, які забезпечують формування запальної реакції на поверхні рани. Їх кількість при цьому становить  $78,45 \pm 0,19\%$  від усіх клітинних елементів мазка. Вміст лейкоцитів і моноцитів є незначним та становить відповідно  $2,26 \pm 0,14\%$  та  $2,6 \pm 0,03\%$ .

Уже через 3 доби після нанесення кислотного опіку формується розгорнута запальна реакція, клітини якої приймають участь у процесах очищення рани від некротичних мас, забезпечують захист від мікробної контамінації та виділяють

активні речовини, які є хемотатрактантами для фібробластів та ендотеліоцитів (рис. 3.14). На 14,21% ( $p \leq 0,05$ ) зростає загальна кількість лейкоцитів в полі зору, що становить  $99,34 \pm 3,1$  клітин. При цьому відбувається значний приріст відсотку нейтрофілів – до  $89,7 \pm 0,17\%$ , що на 14,34% ( $p \leq 0,05$ ) перевищує дані попереднього терміну спостереження. Майже втричі зростає відсоток лімфоцитів – до  $6,6 \pm 0,06\%$ , кількість моноцитів при цьому зменшується до  $1,3 \pm 0,05\%$ . В цей термін спостереження в мазках з'являються макрофаги та полібласти, вміст яких становить  $2,3 \pm 0,08\%$  та  $1,1 \pm 0,04\%$  відповідно. Поява макрофагів обумовлює початок зменшення площі некрозу за рахунок фагоцитозу змертвілих ділянок шкіри.

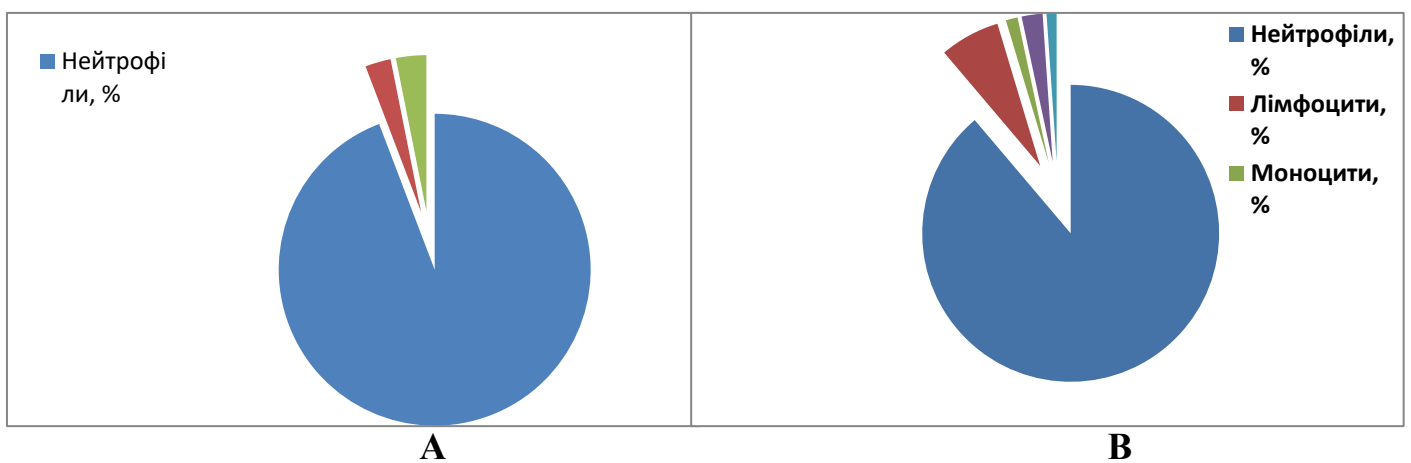


Рисунок 3.14 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку

Через 7 днів після опіку відзначається зменшення загальної кількості лейкоцитів у полі зору до  $52,4 \pm 0,26$  клітин на фоні зростання клітинного різноманіття, що свідчить про початок фази регенерації. Так, кількість нейтрофілів та лімфоцитів зменшується до  $51,5 \pm 0,12\%$  та  $6,1 \pm 0,04\%$  відповідно, що є свідченням зниження активності запальних процесів. Уміст моноцитів зростає на 41,15% ( $p \leq 0,05$ ) і становить  $1,9 \pm 0,03\%$  від загальної клітинної популяції. Порівняно з попереднім терміном спостереження різко зростає кількість макрофагів та полібластів, що свідчить про якісні зміни в регенераті. Відсоток зазначених клітинних елементів становить відповідно  $12,6 \pm 0,09\%$  та  $6,3 \pm 0,07\%$ . Якісні зміни в ушкодженій зоні

характеризуються появою фіброblastів та ендотеліоцитів, що свідчить про початок синтезу позаклітинного матриксу та початок процесів ангиогенезу в рані (рис. 3.15). Більшість цих клітин мають ознаки проліферативної активності, у фіброblastів спостерігається наявність секреторних гранул. Кількість фіброblastів становить  $7,5 \pm 0,08\%$ , ендотеліоцитів –  $2,2 \pm 0,03\%$  від загальної клітинної популяції. У мазках із периферичних ділянок рани зустрічаються поодинокі епітеліоцити, що засвідчує початок їх міграції з неущоджених ділянок шкіри та розгортання процесів епітелізації рани.

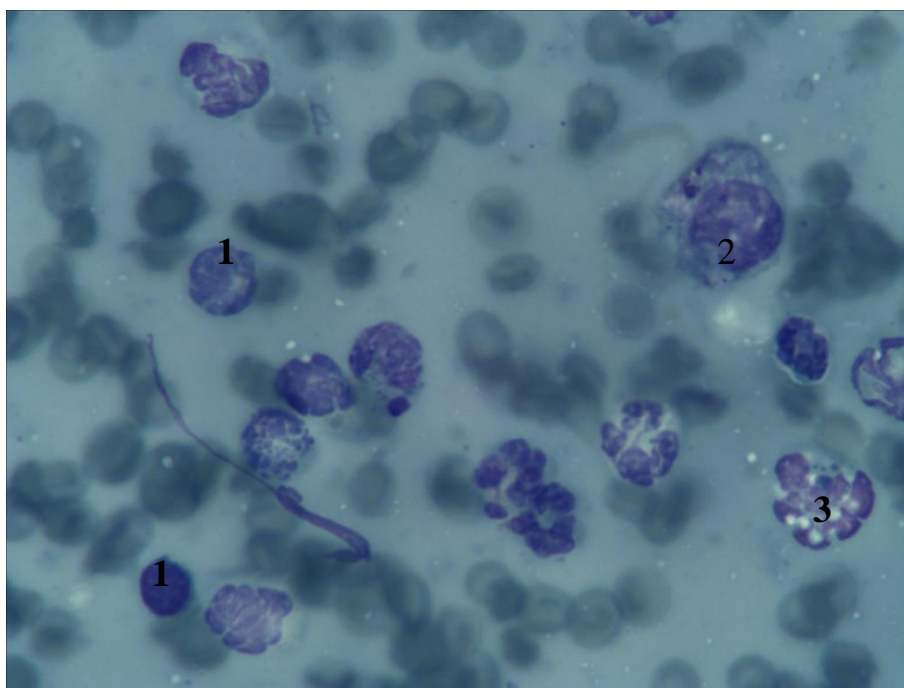


Рисунок 3.15 – Мазок із поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 7 діб після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. X600:

1. Лімфоцит,
2. Нейтрофіл,
3. Еозинофіл.

Через 14 днів після завдання травми мазки з поверхні рани тварин зрілого віку якісно не відрізняються від попереднього терміну спостереження, проте наявні виражені кількісні зміни, які свідчать про розгортання регенераторних процесів у дефекті (рис. 3.16). Так, кількість лейкоцитів у полі зору зменшується порівняно з попереднім терміном спостереження на  $34,17\%$  ( $p \leq 0,05$ ) – до  $34,5 \pm 0,23$  у полі зору. Відсоток нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів, як прозапальних елементів

зменшується відповідно на 15,93% ( $p \leq 0,05$ ), 37,87% ( $p \leq 0,05$ ) та 42,11% ( $p \leq 0,05$ ). Їх вміст серед загальної клітинної популяції становить відповідно  $43,3 \pm 0,21\%$ ,  $4,4 \pm 0,07\%$  та  $1,1 \pm 0,05\%$ . Зменшення кількості прозапальних елементів супроводжується зростанням відсотка тканинних макрофагів на 56,34% ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з попереднім терміном спостереження, що становить  $19,7 \pm 0,17\%$ . Зростання кількості макрофагів супроводжується зменшенням відсотка некротичних мас на поверхні дефекту, що виявляється методом планіметрії та забезпечує активне зростання грануляцій та їх епітелізації. Кількість фібробластів, більшість з яких з ознаками секреції, зростає майже вдвічі – до  $14,2 \pm 0,11\%$ , що забезпечує синтез сполучної тканини, яка заміщує площу травмованої ділянки шкіри. Значно зростає вміст ендотеліоцитів – до  $3,6 \pm 0,08\%$ , що на 63,63% ( $p \leq 0,05$ ) перевищує показники попереднього терміну спостереження та свідчить про активність процесів ангіогенезу в рані. В усіх мазках відзначається поява значної кількості епітеліоцитів, які формують гомогенні групи, що свідчить про активну епітелізацію поверхні дефекту.

Через 21 добу після травми кількість лейкоцитів у полі зору зменшується до  $10,2 \pm 0,04$  клітин, що свідчить про відсутність запальної реакції. Відсоток прозапальних клітин – нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів – становить лише  $13,4 \pm 0,03\%$ ,  $1,8 \pm 0,06\%$  та  $0,8 \pm 0,07\%$  відповідно. Зменшується також кількість макрофагів, що свідчить про зменшення процесів фагоцитозу (рис. 3.17). Відсоток тканинних фагоцитів через 21 добу після травми становить лише  $12,6 \pm 0,08\%$ .

На фоні зменшення прозапальних клітин та макрофагів спостерігається збільшення гістіоцитарних елементів – полібластів, фібробластів та ендотеліоцитів – відповідно до  $12,1 \pm 0,18\%$ ,  $27,8 \pm 0,16\%$  та  $6,8 \pm 0,09\%$  від загальної клітинної популяції. Характерною рисою клітин у цей термін є зменшення їх проліферативної та секреторної активності, що свідчить про завершення процесів синтезу позаклітинного матриксу та судинного русла. В усіх мазках відзначається наявність великої кількості епітеліоцитів, які на відміну від попереднього терміну спостереження формують пласти, що свідчить про виражену епітелізацію поверхні дефекту.



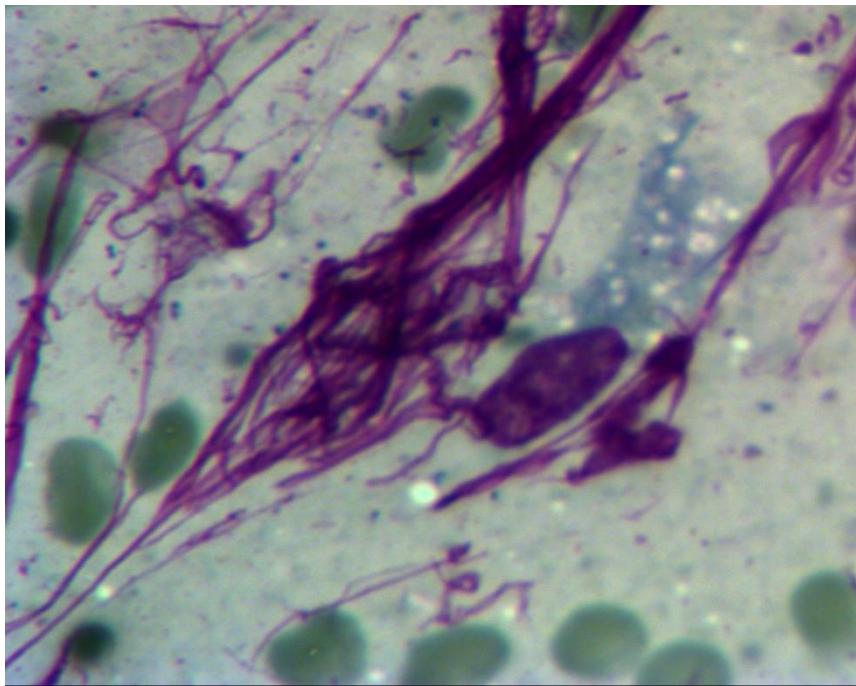


Рисунок. 3.16 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 21 добу після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. х 300

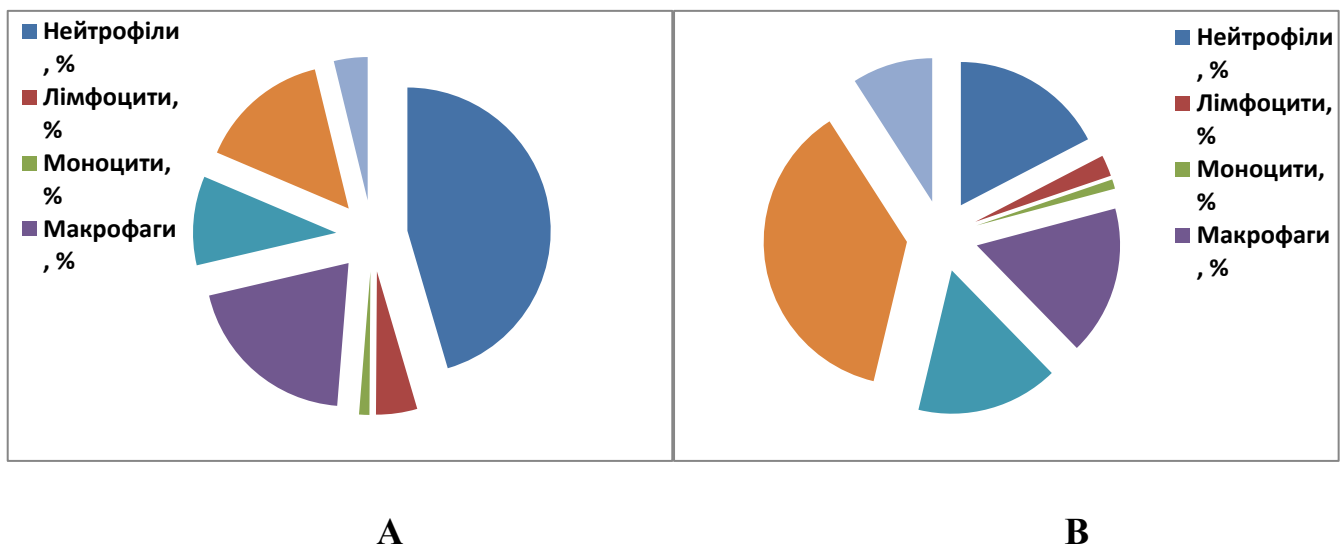


Рисунок 3.17 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 14 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку

Через 1 добу після нанесення хімічного опіку на поверхні дефекту візуалізується формування некротичного струпа, функція якого полягає в обмеженні поширення кислоти на неушкоджені ділянки шкіри. У глибоких шарах шкіри

спостерігається виражена судинна реакція у вигляді повнокров'я судин середнього та малого калібрів, периваскулярного набряку і стазу еритроцитів у судинах мікроциркуляторного русла. Крім того, відзначається виражений стромальний набряк, який є наслідком порушення кровопостачання ураженої ділянки. У поверхневих шарах рани спостерігається клітинна інфільтрація переважно нейтрофільно-лімфоцитарного характеру, яка є більш вираженою в периферичних ділянках дефекту.

Через 3 доби після травми відзначається поширеність стромального набряку в поверхневі шари шкіри та його зростання в глибоких ділянках ушкодженої зони. Периваскулярний набряк та повнокров'я судинного русла зростають, що свідчить про збільшення судинної реакції. Поверхневий некротичний струп відмежовується від здорових тканин валом нейтрофілів, кількість яких значно зростає. Нейтрофільно-лімфоцитарна реакція спостерігається як у глибоких шарах рани, так і на її поверхні (рис. 3.18). На відміну від тварин молодого віку в гістопрепаратах шкіри щурів зрілого віку не спостерігається наявності макрофагів, проте відзначається поява поодиноких моноцитів та полібластів, що мігрують із судин неушкоджених ділянок шкіри.

Через 7 днів від початку процесів регенерації відзначається зменшення периваскулярного і стромального набряку в глибоких шарах ушкодженої ділянки, проте він зберігається біля поверхні дефекту, що обумовлює втрату рідини з поверхні рани. В глибоких ділянках ушкодженої шкіри відзначаються залишки стазів еритроцитів у судинах мікроциркуляторного русла (рис. 3.19). На поверхні дефекту відзначається зменшення площі некротично змінених тканин в першу чергу за рахунок появи значної кількості макрофагів, більшість з яких з ознаками активного фагоцитозу. Проте деякі клітини характеризуються незавершеним фагоцитозом, що свідчить про низький рівень активності процесів. У поверхневих ділянках зменшується запальна реакція, що супроводжується зменшенням лейкоцитарної інфільтрації.

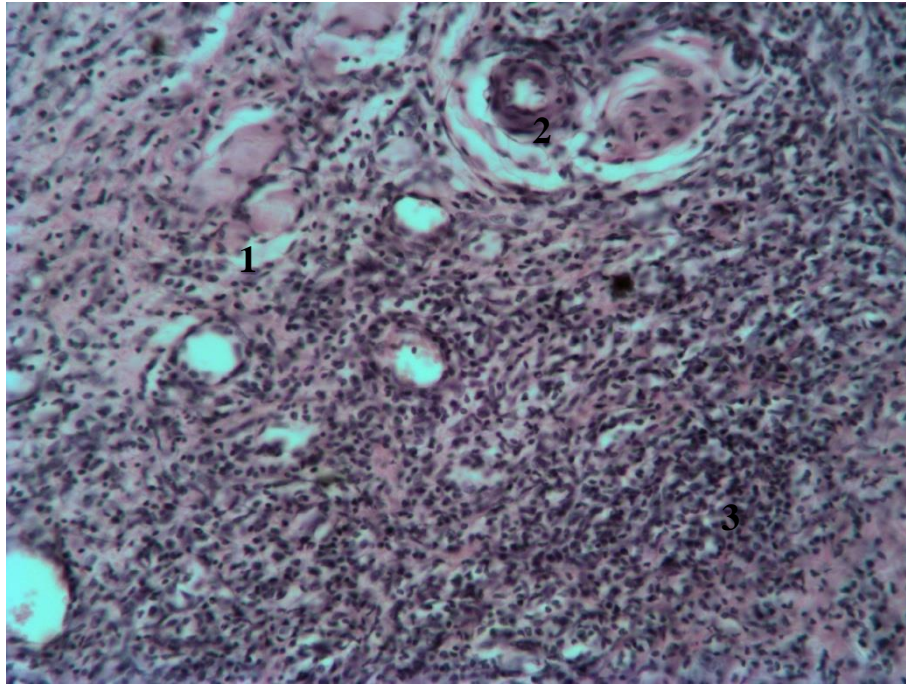


Рисунок 3.18 – Дефект шкіри щура зрілого віку на 3-тю добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Стромальний набряк,
2. Периваскулярний набряк,
3. Лейкоцитарна інфільтрація.

У периферичних ділянках дефекту відзначається розвиток грануляційної тканини, що покриває поверхню дефекту. Грануляції характеризуються невпорядкованим розташуванням сполучнотканинних волокон та наявністю значної кількості судин, переважно дрібного калібру. В стромі грануляцій знаходиться значна кількість фібробластів з ознаками секреторної активності. Таким чином, через 7 днів відзначається перехід запальної фази процесу регенерації у фазу грануляції.

Через 14 днів після травми відзначається значне зменшення стромального та периваскулярного набряку, що візуалізується лише біля поверхні дефекту. В глибоких шарах рани не спостерігається порушення мікроциркуляції та структури позаклітинного матриксу. Лейкоцитарна інфільтрація майже повністю зникає, залишаючись лише навколо залишків некротично зміненої тканини на поверхні дефекту. В зазначених ділянках відзначається значна фагоцитарна активність,

більшість макрофагів знаходяться в фазі активного фагоцитозу, кількість гинучих клітин та з незавершеним фагоцитозом незначна.

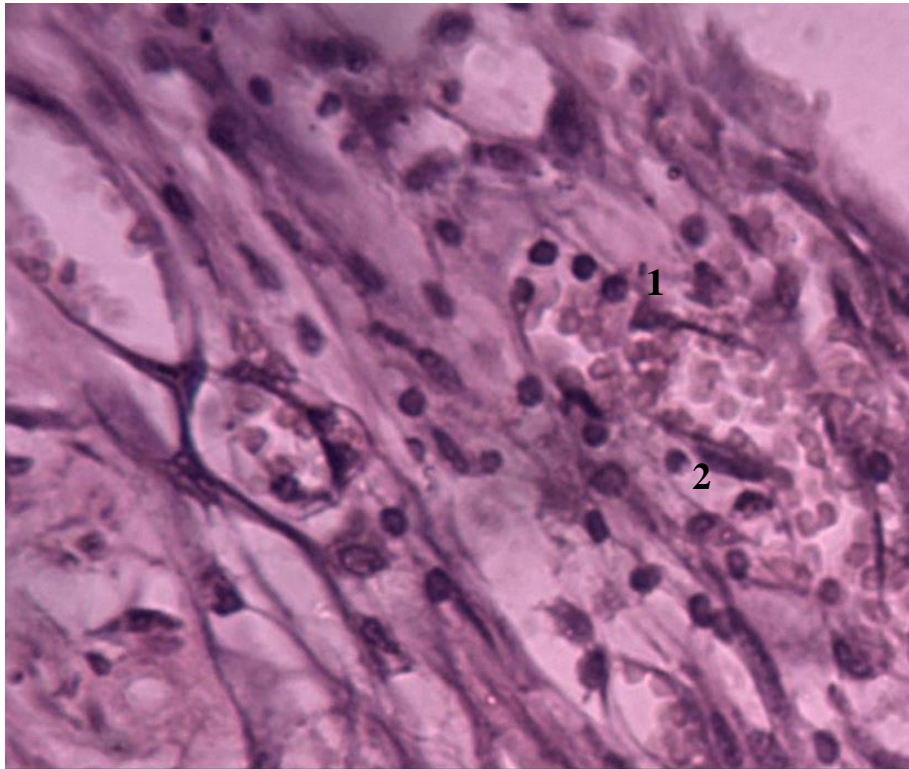


Рисунок 3.19 – Дефект шкіри щура зрілого віку на 7 добу після нанесення кислотного опіку. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Грануляційна тканина,
2. Фібробласт.

Грануляційна тканина поширюється з периферичних ділянок у центральні, майже повністю покриваючи поверхню дефекту (рис. 3.20). Фібробласти, розміщені в матриксі грануляцій, мають ознаки секреторної активності та оточені пухкою сполучною тканиною з невпорядкованим напрямком фібрил. Із периферичних ділянок дефекту починається епітелізація поверхні рани, поширюючись у її центральну зону. Загалом на 14-ту добу спостереження відзначається перехід у фазу епітелізації.

На 21-шу добу спостереження відзначається майже повна відсутність нейтрофільно–лімфоцитарної інфільтрації та некротично змінених ділянок шкіри. Поверхня дефекту покрита новосформованим епітелієм та грануляційною тканиною, наявною в центральних зонах рани. Під поверхнею епітелію формується

рубцево–змінена сполучна тканина з великою кількістю фібробластів та незначною васкуляризацією. Таким чином, на 21-шу добу після травми відзначається завершення процесів регенерації дефекту шкіри з формуванням післяопікового рубця.

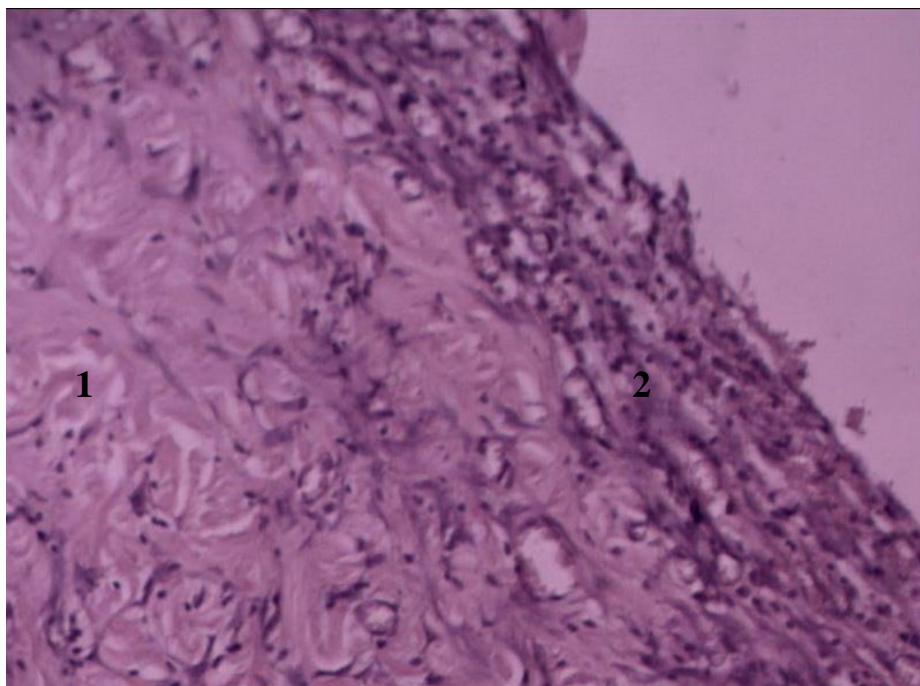


Рисунок 3.20 – Дефект шкіри щура зрілого віку на 14 добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. набряк тканин дерми,
2. Грануляційна тканина.

На відміну від тварин молодого віку у зрілих щурів відбувається збільшення площі стромального набряку з  $23,1 \pm 0,13\%$  у перший день спостереження до  $26,7 \pm 0,34\%$  – через 3 доби після травми. Проте в подальшому відзначається стрімке зменшення набряку, що становить лише  $9,12 \pm 0,16\%$  через 14 днів після нанесення опіку та його відсутність через 21 добу після травми (рис. 3.21). Відносна площа судин дерми незначно зменшується з  $8,91 \pm 0,05\%$  в першу добу спостереження до  $6,84 \pm 0,12\%$  – в останній термін, що свідчить про зменшення периваскулярного набряку та судинного повнокров'я. При цьому середній діаметр судин дерми зменшується з  $36,5 \pm 0,83$  мкм у перший термін спостереження до  $20,19 \pm 0,18\%$  – через 21 день.

Відносна площа судин грануляційної тканини зростає з  $4,07 \pm 0,04\%$  через 3 доби до  $13,6 \pm 0,09\%$  через 7 та  $18,23 \pm 0,12\%$  – через 14 днів після травми. Через 21 добу після нанесення опіку відбувається перебудова грануляційної тканини та зменшення площі судинного русла на 21,45% ( $p \leq 0,05$ ) порівняно з попереднім терміном спостереження, що становить  $14,32 \pm 0,05\%$ . Середній діаметр судин грануляційної тканини при цьому повільно зростає з  $14,5 \pm 0,11$  мкм через 3 доби до  $19,38 \pm 0,13$  мкм – через 21 день після травми шкіри.

Мікробіологічне дослідження змивів із поверхні рани тварин зрілого віку через 1 добу після завдання травми показало наявність контамінації рани лише умовно-патогенною мікрофлорою, яка є в наявності на шкірі здорових щурів даної вікової групи. У невеликій кількості трапляються лише *Staphylococcus* sp. –  $\leq 50$  КУО та *Streptococcus* sp. –  $\leq 70$  КУО. На відміну від тварин молодого віку в рані відсутні гриби роду *Candida* та *Aspergillus*.

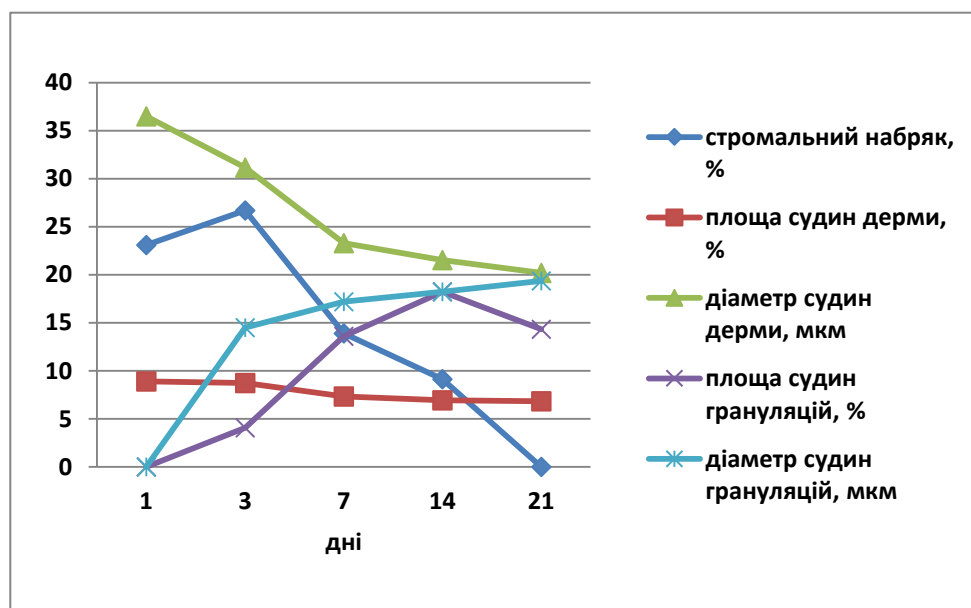


Рисунок 3.21 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин зрілого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку.

Проте вже через 3 доби після нанесення дефекту шкіри спостерігається її заселення як умовно-патогенними, так і патогенними бактеріями та грибами. При цьому відзначається різке зростання кількості *Staphylococcus* sp. та *Streptococcus* sp. – відповідно до  $\leq 10^2$  та  $\leq 10^3$  КУО, що, можливо, обумовлене формуванням ексудативної реакції на поверхні дефекту, яка є поживним середовищем для росту

бактерій. У цей термін спостереження відзначається поява *Vacillus cereus* в кількості  $\leq 10^2$  та грибів роду *Candida* та *Aspergillus* в кількості  $\leq 10^3$  та  $\leq 10^2$  КУО відповідно. На відміну від тварин молодого віку у відсотковому співвідношенні в рані тварин зрілого віку не відбувається домінування патогенної мікрофлори, що, можливо, пов'язане з сформованими імунними реакціями (рис. 3.22).

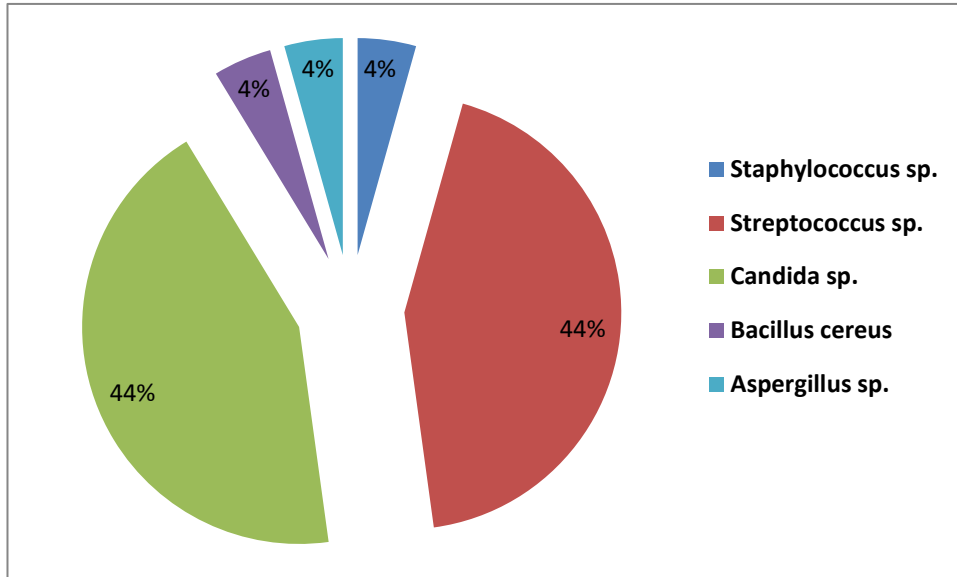


Рисунок 3.22. – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура зрілого віку через 3 доби після нанесення кислотного опіку

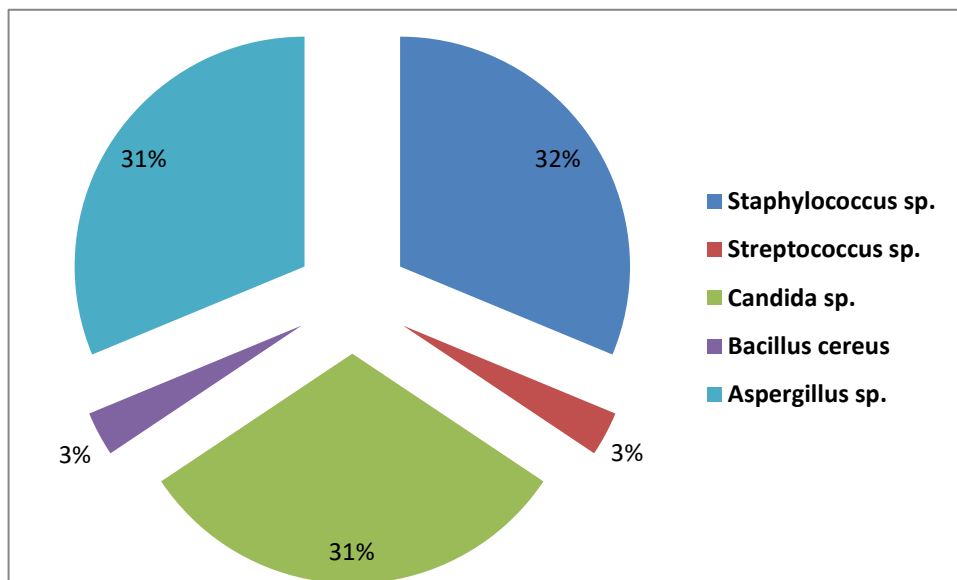


Рисунок 3.23 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура зрілого віку через 7 діб після нанесення кислотного опіку

Через 7 днів спостереження відзначається значний ріст мікрофлори на поверхні дефекту. Відбувається значне зростання кількості стафілококів – до  $\leq 10^4$  КУО, при цьому вміст стафілококів залишається на рівні попереднього терміну спостереження. Кількість колоній патогенних бактерій та грибів значно зростає, досягаючи рівня  $\leq 10^3 - 10^4$  КУО. При цьому питома вага патогенних мікроорганізмів сягає 65% (рис. 3.23).

Через 14 днів після нанесення опіку шкіри відзначається зменшення кількості патогенних бактерій та грибів, що може бути свідченням як активізації імунних реакцій, так і антагонізмом з умовно-патогенними мікроорганізмами. Кількість *Bacillus cereus* зменшується до  $\leq 10^2$  КУО, а грибів роду *Candida* та *Aspergillus* відповідно до  $\leq 10^2$  КУО та  $\leq 90$  КУО. При цьому рівень умовно-патогенних стафілококів та стрептококів становить відповідно  $\leq 10^3$  та  $\leq 10^2$  КУО, що відповідає 79% від загальної кількості мікроорганізмів у рані (рис. 3.24).

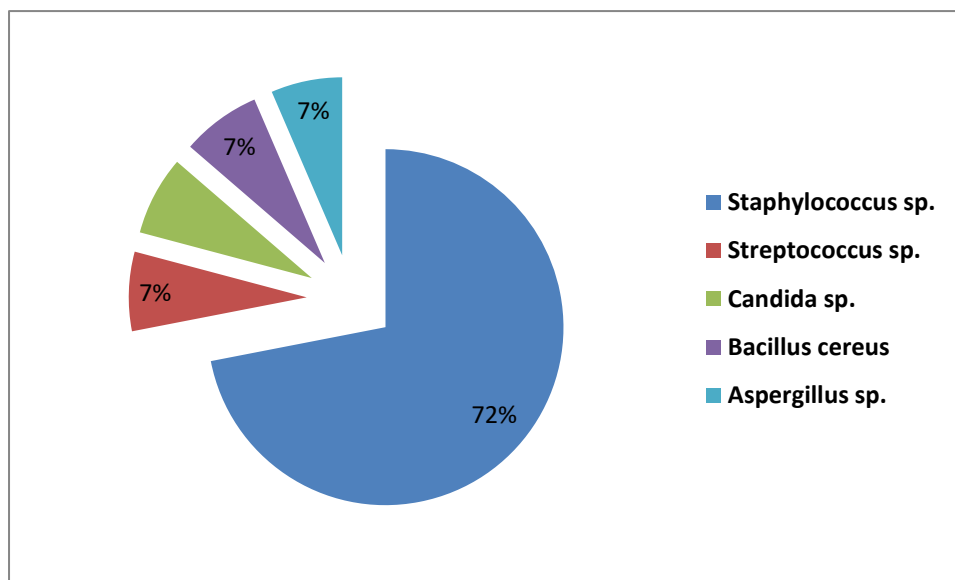


Рисунок 3.24 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура зрілого віку через 14 діб після нанесення кислотного опіку

Через 21 добу після завдання травми шкіри відмічається значне зменшення патогенних мікроорганізмів на поверхні рани. Кількість колоній *Bacillus cereus* зменшується до 40 КУО, *Aspergillus sp.* – до 60 КУО, а гриби роду *Candida* відсутні взагалі. З поверхні рани виділяються в основному умовно-патогенні стафілококи в кількості  $\leq 10^2$  КУО та стрептококи –  $\leq 60$  КУО, що становить 62% від загальної кількості мікроорганізмів.



### 3.3. Морфофункціональні зміни шкіри тварин старечого віку за умов хімічного опіку

У тварин старечого віку після нанесення кислотного опіку через 1 добу відбувається формування некротичного струпа, що покриває  $58,17 \pm 0,36\%$  дефекту шкіри. На поверхні опіку помітні залишки судин дрібного калібру та підшкірно-жирова клітковина. Через 3 доби після завдання травми відбувається незначне зменшення площі некротизованих тканин, що становлять  $51,21 \pm 0,23\%$  від загальної площі рани. У цей термін спостереження відбувається виділення серозного ексудату на поверхню дефекту, що покриває майже всю площу рани. На периферії рани формуються поодинокі вогнища грануляційної тканини, проте їх площа становить лише  $3,69 \pm 0,04\%$ , що є значно меншим за показники тварин молодого та зрілого віку.

Через 7 днів після нанесення дефекту спостерігається збільшення кількості ексудату та зменшення відсотка некротизованих ділянок, проте їх відносна площа становить  $26,23 \pm 0,07\%$ , що значно перевищує показники тварин попередніх вікових груп та свідчить про уповільнення процесів регенерації шкіри з віком. Незважаючи на значні залишки некротичного струпа, по периферії рани зростає кількість грануляцій, відносна площа яких становить  $21,82 \pm 0,24\%$ . Грануляційна тканина містить меншу кількість судин, ніж у тварин молодого та зрілого віку. На відміну від попередніх вікових груп у цей термін спостереження не спостерігається епітелізації поверхні дефекту.

Через 14 днів після травми відзначається зменшення площі некротизованих тканин до  $13,09 \pm 0,05\%$ , проте це майже вдвічі вище, ніж у тварин молодого віку. Відмінністю планіметричної картини рани тварин старечого віку є зростання площі грануляцій до  $29,11 \pm 0,15\%$ , що, можливо, пов'язане з пізнім початком їх формування та свідчить про уповільнення формування основних тканин регенерату шкіри (рис. 3.25). У проміжок часу між 7-м та 14-м днями після завдання травми відбувається початок епітелізації поверхні дефекту, і вже на 14-ту добу площа епітелізованих ділянок становить  $24,95 \pm 0,19\%$ .

Лише через 21 добу після нанесення хімічного опіку не спостерігається наявності некротичного струпа на поверхні рани. При цьому відзначаються значні за площею грануляції, відносний вміст яких становить  $9,56 \pm 0,05\%$ . Епітелізація рани в цей термін є незавершеною і площа епітелізованих ділянок становить лише  $68,44 \pm 0,28\%$ .

Загалом, початок епітелізації рани у тварин старечого віку розпочинається лише на  $14,80 \pm 0,30$  добу після травми, що майже на 3 доби пізніше, ніж у тварин молодого віку. При цьому епітелізація рани завершується на  $22,30 \pm 0,60$  добу після травми при її швидкості лише  $0,67 \pm 0,08$  мм/добу. При цьому площа дефекту зменшується лише з  $1,76 \pm 0,09$  см<sup>2</sup> у перший термін спостереження до  $0,75 \pm 0,03$  см<sup>2</sup> через 21 день після травми.

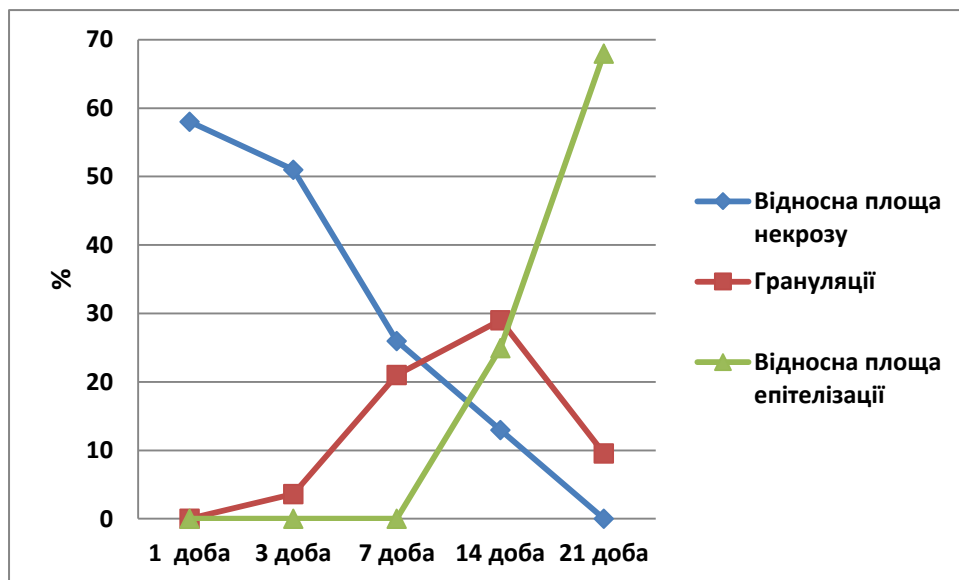


Рисунок 3.25 – Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів старечого віку

Цитологічне дослідження мазків із поверхні рани тварин старечого віку показало низьку активність клітинної реакції через 1 добу після завдання травми кислотою. Як у поверхневих, так і в глибоких мазках налічується не більше  $65,03 \pm 0,19$  лейкоцитів у полі зору. При цьому кількість нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів становить лише  $65,12 \pm 0,32\%$ ,  $5,1 \pm 0,09\%$  та  $3,3 \pm 0,11\%$ , що значно менше ніж у тварин попередніх вікових груп.

На третю добу спостереження, що супроводжується піком зростання клітинного складу в мазках тварин молодого та зрілого віку, цитологічна картина мазків щурів старечого віку свідчить про незначний зростання лейкоцитів, які лише на 20,99% ( $p \leq 0,05$ ) перевищують показники попереднього терміну спостереження, що становить  $78,68 \pm 2,2$  клітини у полі зору.

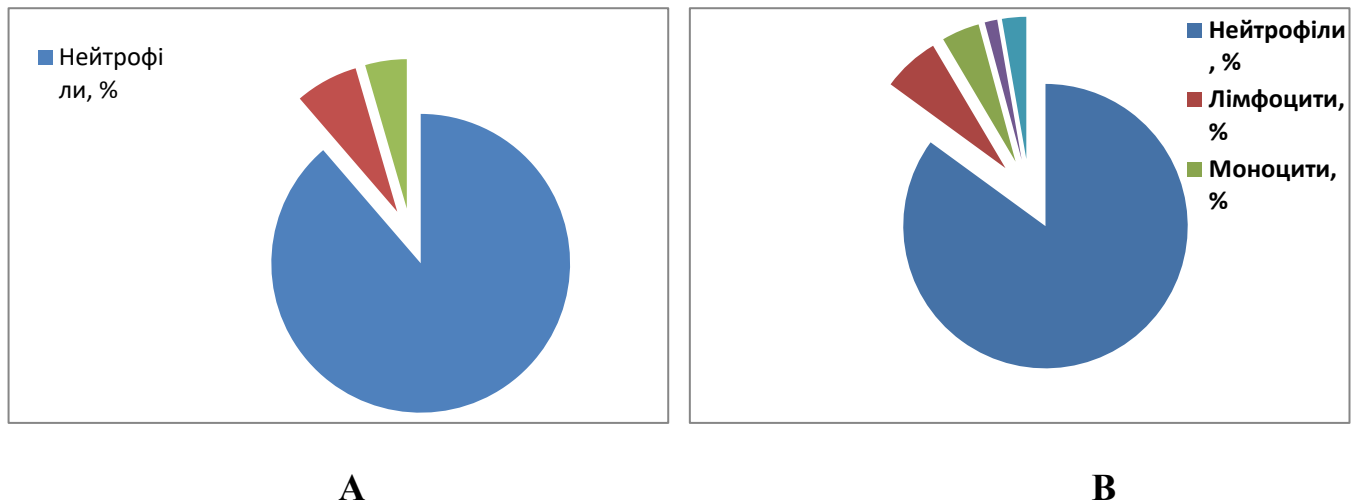


Рисунок 3.26 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку

Лише на 9,95% зростає кількість нейтрофілів порівняно з першою добою після травми і становить  $71,6 \pm 0,26\%$  від загального клітинного складу мазків. Майже незмінним залишається рівень лімфоцитів та моноцитів, що становить відповідно  $5,4 \pm 0,07\%$  та  $3,6 \pm 0,15\%$ . У цей термін спостереження відзначається поява макрофагів та полібластів у кількості  $1,2 \pm 0,09\%$  та  $2,3 \pm 0,08\%$ . Незначна кількість макрофагів через 3 дні після травми обумовлює уповільнення фагоцитозу пошкоджених тканин та регенерації взагалі. При цьому багато клітин мають ознаки незавершеного фагоцитозу (рис. 3.27). Однією з гіпотез появи полібластів є утворення цих клітин при злитті функціонально неповноцінних макрофагів, що може пояснити більш значний вміст полібластів порівняно з препаратами тварин молодого та зрілого віку.

Через 7 днів після кислотного опіку шкіри у тварин старечого віку кількість лейкоцитів у полі зору майже не змінюється порівняно з попереднім терміном спостереження і становить  $74,9 \pm 0,19$  клітин у полі зору. Також майже не змінюється рівень нейтрофілів, що становить в середньому  $74,8 \pm 0,37\%$ . Більшість клітин

звичайної форми із сегментованим ядром, хоча трапляються і деструктивні форми. На 21,12% ( $p \leq 0,05$ ) та 36,11% ( $p \leq 0,05$ ) зменшується кількість лімфоцитів та моноцитів, що забезпечують окрім прозапальної функції, секрецію ряду хемотаксинів та біологічно активних сполук, що обумовлюють міграцію фібробластів та початку синтезу позаклітинного матриксу. Кількість зазначених клітинних елементів у мазку становить відповідно  $4,8 \pm 0,05\%$  та  $2,3 \pm 0,06\%$ .

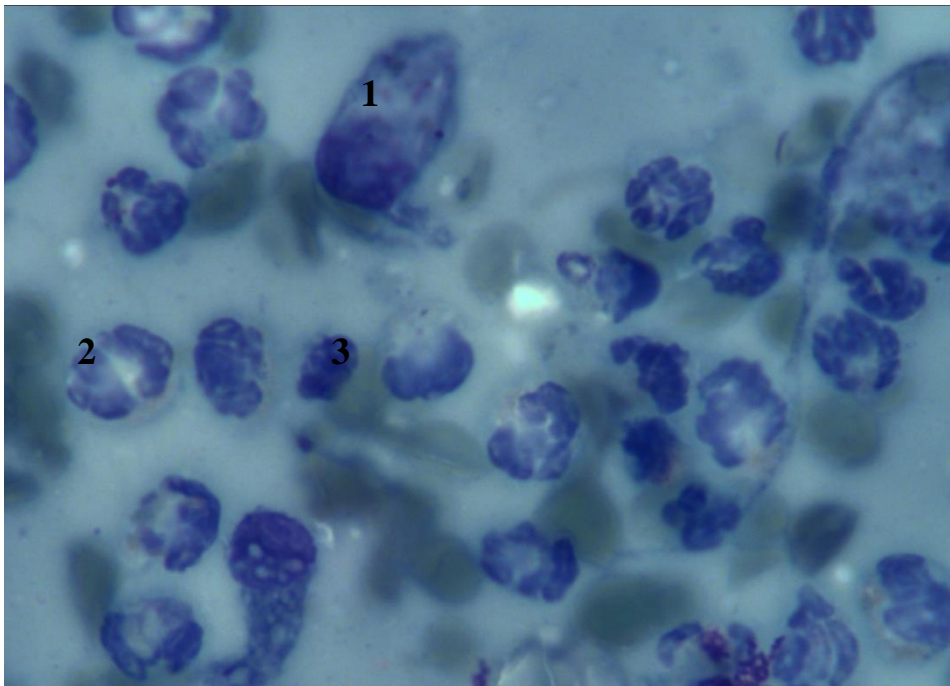


Рисунок 3.27 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 3 доби після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл,
3. Лімфоцит.

Паралельно зі зменшенням активності запальної реакції відзначається зростання кількості макрофагів та полібластів, рівень яких становить відповідно  $8,7 \pm 0,15\%$  та  $7,8 \pm 0,12\%$ . Якісно відзначається зменшення фагоцитарної та проліферативної активності макрофагів, поява дегенеративних форм та загиблих клітин. Через 7 днів після травми шкіри у мазках із поверхні рани трапляються фібробласти та ендотеліоцити (рис. 3.28). Проте їх кількість дуже низька для забезпечення повноцінних процесів синтезу позаклітинного матриксу і становить

відповідно  $4,7\pm 0,10\%$  та  $1,8\pm 0,06\%$ . У мазках із периферичних ділянок рани трапляються поодинокі епітеліоцити з низьким рівнем проліферативної активності.

На 14-ту добу після травми спостерігається значне зменшення кількості лейкоцитів до рівня  $46,3\pm 0,11$  клітин у полі зору, що свідчить про зменшення вираженості запальної реакції. Підтвердженням цього є зменшення кількості нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів відповідно до  $58,7\pm 0,18\%$ ,  $4,0\pm 0,12\%$  та  $1,6\pm 0,03\%$ . Прозапальні клітини звичайної форми, з мінімальними ознаками активності, що свідчить про зменшення запальної реакції у рані. На  $54,02\%$  ( $p\leq 0,05$ ) порівняно з попереднім терміном спостереження зростає кількість макрофагів, що становить  $13,4\pm 0,13\%$  серед всіх клітин мазків із поверхні рани. При цьому дещо зростає кількість клітин із завершеним фагоцитозом, хоча відсоток форм з незавершеним процесом лізису становить близько  $23\%$ .

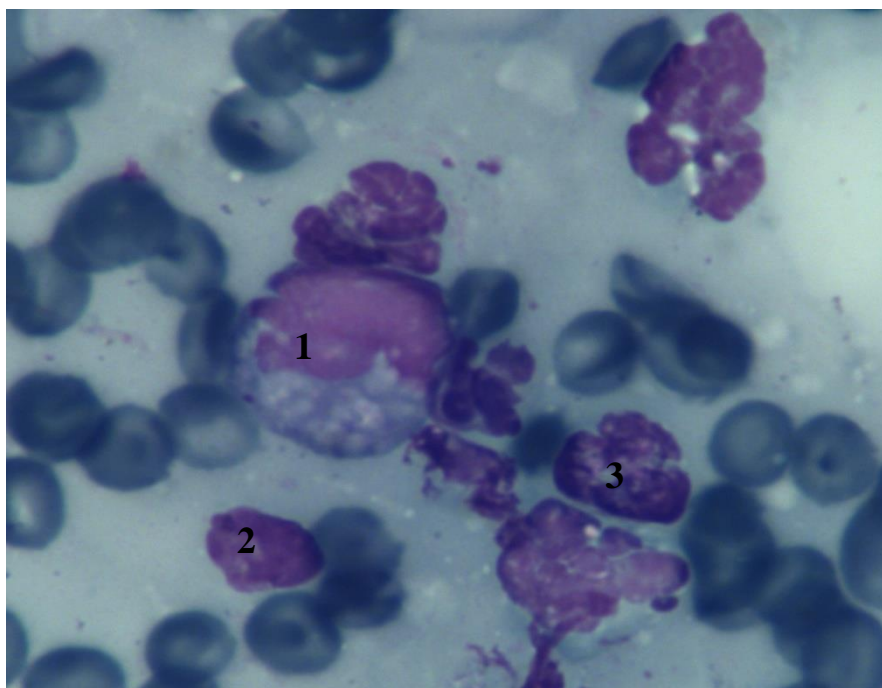


Рисунок 3.28 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 7 діб після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Лімфоцит,
3. Нейтрофіл.

Порушення процесів фагоцитозу супроводжується також зростанням кількості полібластів до  $10,3\pm 0,27\%$ , що на  $32,02\%$  ( $p\leq 0,05$ ) перевищує ці попереднього терміну

спостереження. Позитивним моментом аналізу цитограми мазків з поверхні рани тварин старечого віку є зростання майже вдвічі кількості фібробластів – до  $10,8 \pm 0,06\%$ . Більшість клітин з ознаками проліферативної та секреторної активності, що свідчить про утворення позаклітинного матриксу в регенераті шкіри (рис. 3.29). До  $3,0 \pm 0,11\%$  збільшується відносний вміст кількості ендотеліоцитів, що також супроводжує процеси синтезу сполучнотканинного матриксу шкіри. В усіх мазках зустрічаються епітеліоцити, що візуалізуються як поодинокі, так і групами клітин, проте їх кількість дещо менша, ніж в аналогічний період у тварин молодого та зрілого віку.

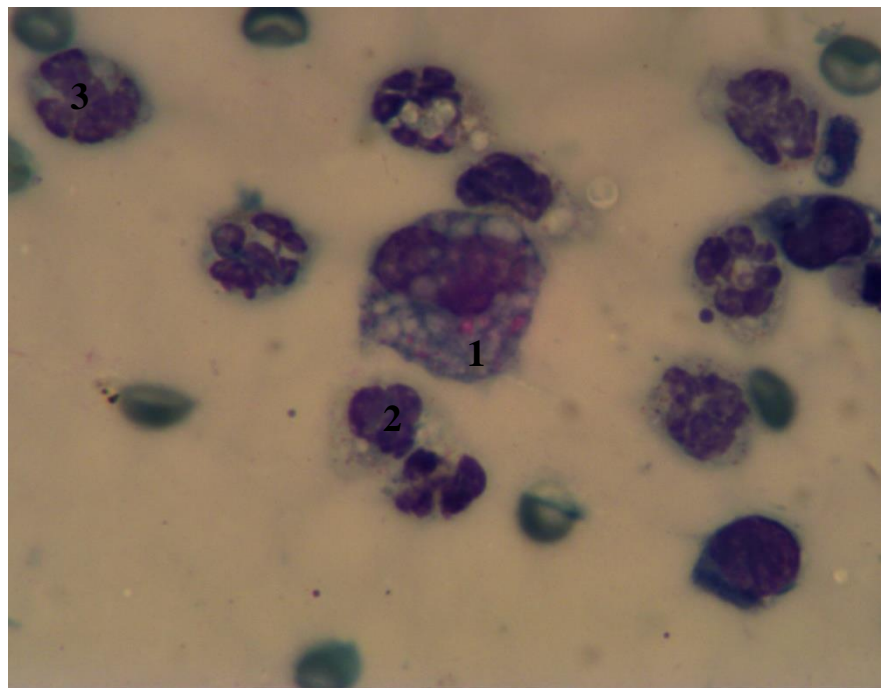


Рисунок 3.29 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 14 діб після нанесення хімічного опіку. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Лімфоцит,
3. Нейтрофіл.

На 21-шу добу після нанесення кислотного опіку шкіри, незважаючи на позитивну динаміку, спостерігається наявність значної кількості лейкоцитів – до  $18,4 \pm 1,13$  у полі зору. Відсоток нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів також є значним і становить відповідно  $24,6 \pm 0,09\%$ ,  $2,6 \pm 0,04\%$  та  $1,0 \pm 0,05\%$  (рис. 3.30). Зважаючи на відсутність виражених ознак активності, можна стверджувати про розвиток хронічного запалення, що уповільнює регенеративні процеси у шкірі.

Незважаючи на значні залишки прозапальних клітин, відзначається збільшення кількості макрофагів та полібластів до  $15,8 \pm 0,15\%$  та  $14,2 \pm 0,12\%$ , що також не відповідає динаміці, виявленій у тварин молодого та зрілого віку. Зростання цих клітин свідчить про фагоцитарну активність та незавершеність процесів очищення поверхні від змертвілих тканин. Проте кількість фібробластів досягає рівня  $20,5 \pm 0,29\%$ , що свідчить про активність процесів синтезу позаклітинного матриксу. На  $40,0\%$  ( $p \leq 0,05$ ) зростає кількість ендотеліоцитів, їх відсотковий вміст становить  $4,2 \pm 0,11\%$  серед загальної клітинної популяції. В усіх мазках відзначається велика кількість епітеліоцитів, які визуалізуються як у вигляді груп клітин, так і значних за розміром пластів.

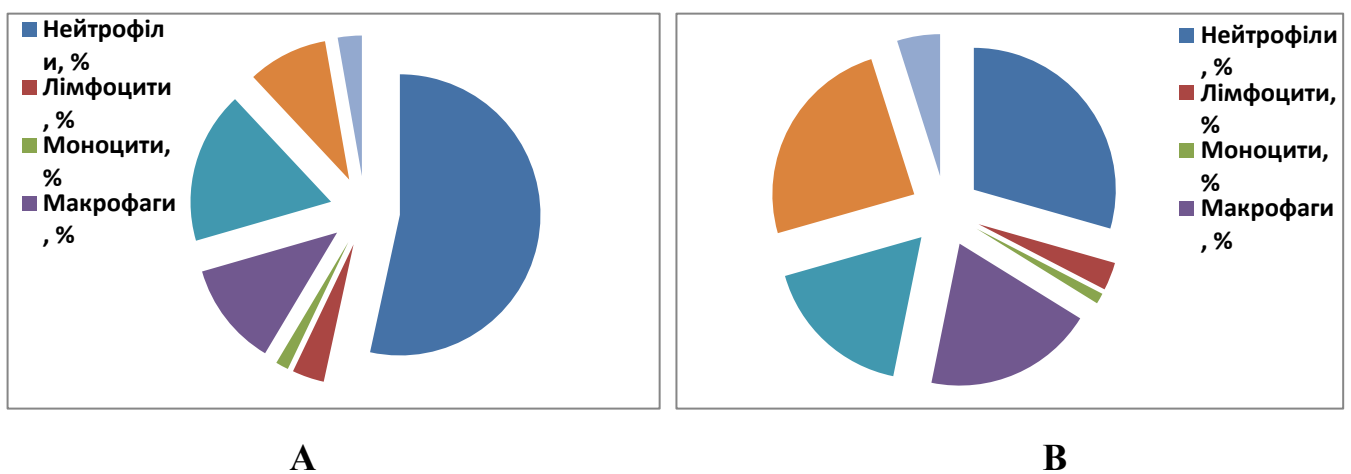


Рисунок 3.30 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 14 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку

При гістологічному дослідженні біоптатів дефекту шкіри тварин старечого віку після нанесення хімічного опіку спостерігається формування вираженого некротичного струпа на поверхні рани вже з першої доби спостереження. Під струпом формується нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація, яка виявляє менш виражений характер, ніж у тварин молодого та зрілого віку. В глибоких шарах шкіри спостерігається судинна реакція у вигляді стазів еритроцитів мікроциркуляторного русла та периваскулярного і стромального набряку. Відмінністю гістологічної картини у тварин старечого віку є менша вираженість судинної реакції біля поверхні рани (рис. 3.31).

Через 3 доби після травми відзначається зростання лейкоцитарної інфільтрації, проте її вираженість залишається меншою, ніж у тварин попередніх вікових груп. У глибоких шарах рани судинна реакція призводить до вираженого стромального набряку, що руйнує звичайну будову шарів шкіри. Місцями спостерігається вихід формених елементів із судин, що свідчить про збільшення проникності їх стінки. В капілярах зберігаються стази еритроцитів (рис. 3.32). На поверхні дефекту не відзначається формування грануляційної тканини та відсутні макрофаги, функція яких полягає у фагоцитозі пошкоджених ділянок шкіри та бактерій, що з'являються на поверхні рани. Судинна реакція біля поверхні дефекту менш виражена, що призводить до зменшення набряку та формування ексудату порівняно з тваринами молодого та зрілого віку.

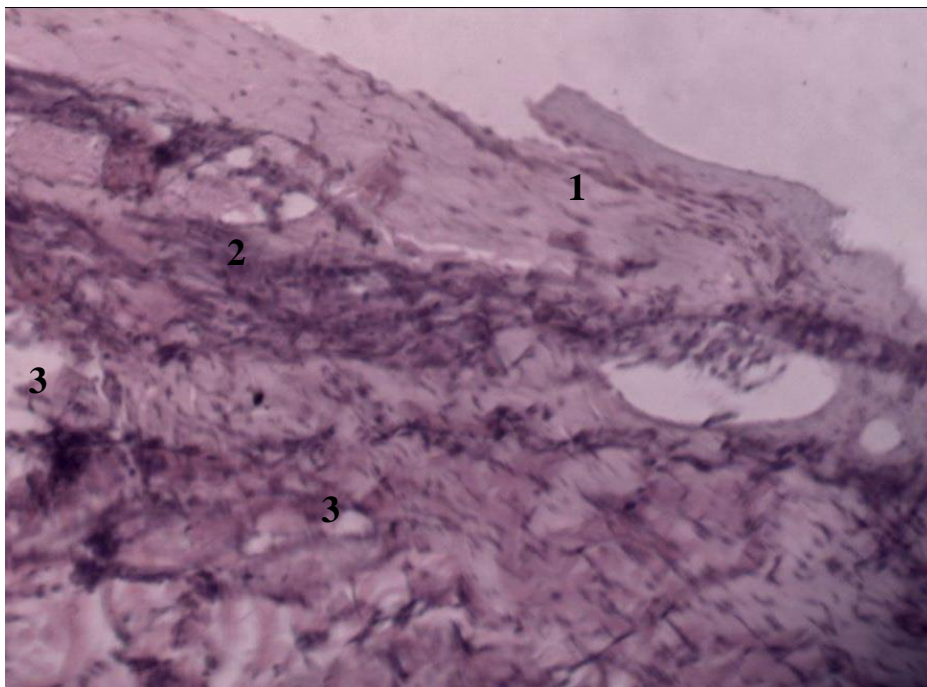


Рисунок 3.31 – Дефект шкіри щура старечого віку на 1 добу після нанесення кислотного опіку. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Руйнування поверхневих шарів,
2. Лейкоцитарна інфільтрація,
3. набряк тканин.

На 7-му добу після хімічного опіку шкіри в поверхневих шарах дефекту відзначається повільне зменшення набряку строми та знижується вираженість повнокров'я судин дрібного та середнього калібру. Залишаються стази еритроцитів



судин мікроциркуляторного русла, що призводить до порушень обміну тканин та зниженні регенераторного потенціалу шкіри. На поверхні дефекту відзначається зменшення некротичного струпа за рахунок появи макрофагів. Проте у препаратах переважають клітини з незавершеним фагоцитозом та гинучі макрофаги. Зменшується вираженість нейтрофільної інфільтрації. У крайових зонах рани помітне формування грануляційної тканини, проте вона збіднена на судини та клітинні елементи, що свідчить про зниження регенераторного потенціалу шкіри з віком. Грануляційна тканина характеризується хаотичним розміщенням сполучнотканинних волокон, між якими розміщені фібробласти із низьким вмістом секреторних гранул.

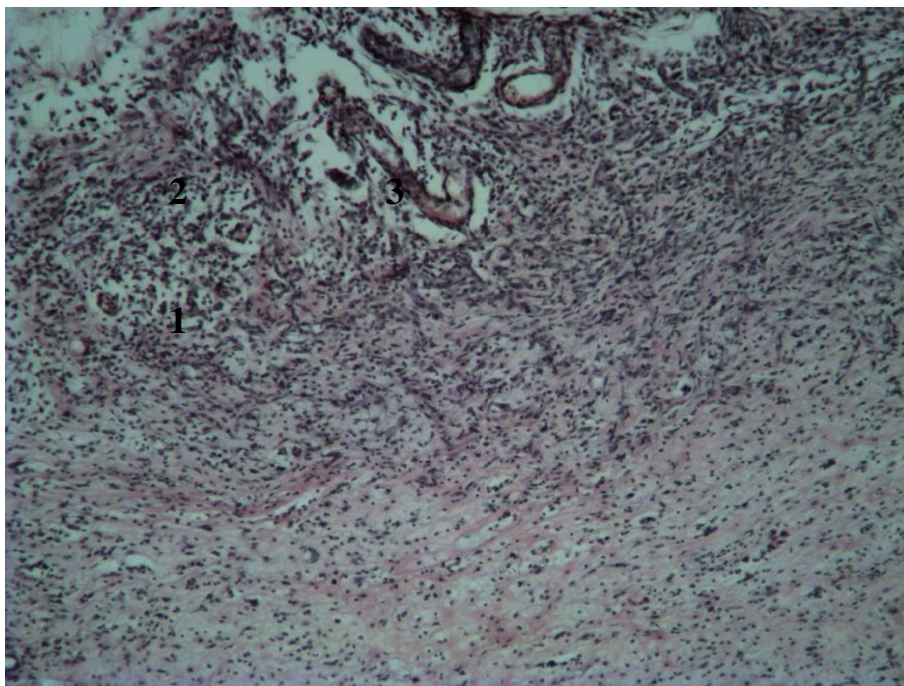


Рисунок 3.32 – Дефект шкіри щура старечого віку на 3 добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. Х150:

1. набряк,
2. Молода грануляційна тканина,
3. Повнокровна судина.

Через 14 днів після травми відзначається подальше зменшення як периваскулярного, так і стромального набряку в усіх шарах пошкодженої шкіри. При цьому більш виражена судинна реакція спостерігається в глибоких ділянках дефекту. Лейкоцитарна інфільтрація зменшується та майже зникає в периферичних ділянках

рани. В центральних її відділах залишаються масивні ділянки некрозу, що відмежований від здорових тканин нейтрофільним валом (рис. 3.33). Продовжується формування грануляцій, які виявляються в біоптатах з усіх ділянок ураження. У периферичних зонах поверх грануляційної тканини формується шар епітелію, клітини якого мають менш виражені проліферативні зміни порівняно з тваринами молодого та зрілого віку. Таким чином, у тварин старечого віку лише на 14-ту добу помітні ознаки початку фази епітелізації.

Лише через 21 добу після травми відзначаються відсутність некротично змінених тканин на поверхні дефекту та суттєве зменшення нейтрофільної інфільтрації в центральних зонах рани. Поверхня дефекту майже повністю вкрита грануляціями, на поверхні яких формується епітеліальна тканина (рис. 3.34). Загалом, через 21 добу після травми спостерігається формування рубцевої тканини, що покривається епітелієм. Це свідчить про уповільнення процесів регенерації шкіри у тварин старечого віку.

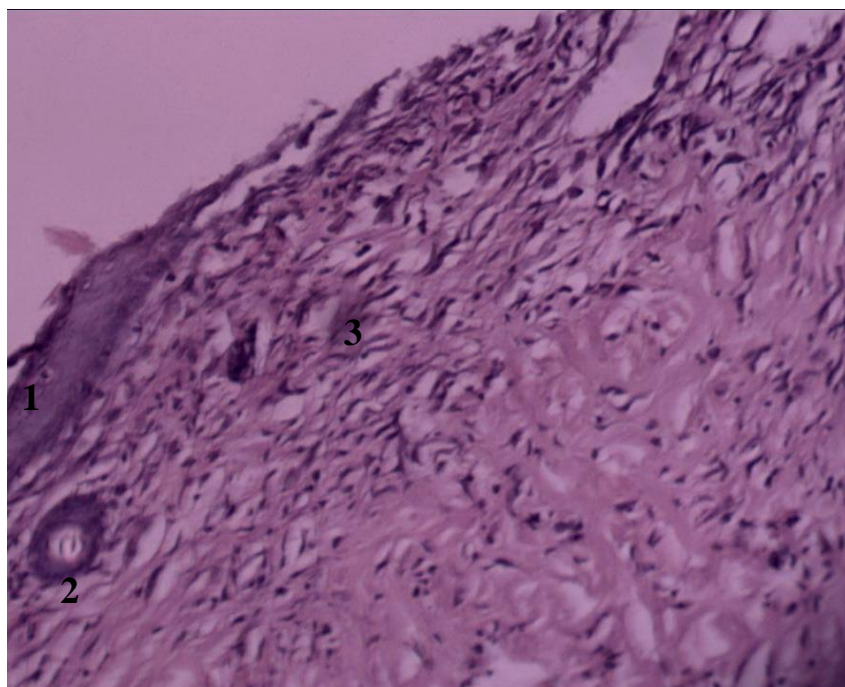


Рисунок 3.33 – Дефект шкіри щура старечого віку на 14 добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Неушкоджена ділянка шкіри,
2. Судина,
3. Формування грануляційної тканини,

Морфометрія гістологічних препаратів свідчить про значну затримку зменшення набряку стромы порівняно із тваринами попередніх вікових груп. Так, відносна площа стромального набряку через 1 добу після нанесення дефекту становить  $28,9 \pm 0,34\%$  та зростає на 3-тю добу після травми до  $31,5 \pm 0,21\%$ . Через 7 та 14 днів після нанесення кислотного опіку шкіри площа стромального набряку незначно зменшується і становить відповідно  $25,4 \pm 0,47\%$  та  $17,09 \pm 0,23\%$ .

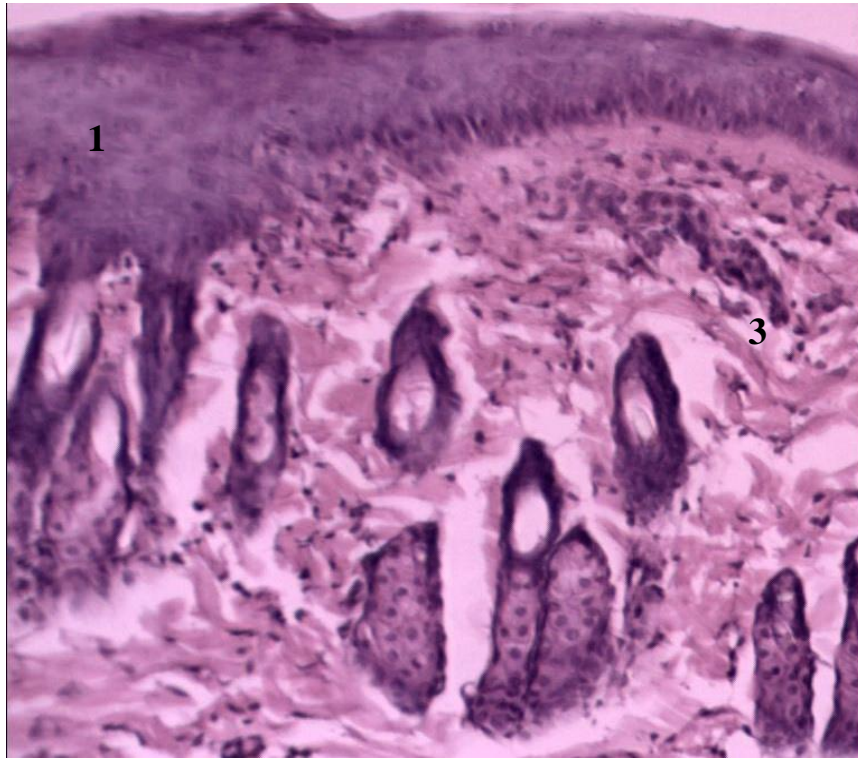


Рисунок 3.34 – Дефект шкіри щура старечого віку на 21 добу після нанесення кислотного опіку. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Епітелізована поверхня дефекту,
2. Залози,
3. Набряк.

При цьому навіть у останній термін спостереження площа набряку становить  $6,76 \pm 0,11\%$ . Формування набряку супроводжується судинними реакціями, в першу чергу явищами повнокров'я, що підтверджується значною площею судин дерми та їх діаметра, які становлять відповідно  $9,56 \pm 0,03\%$  та  $39,6 \pm 0,45$  мкм через 1 добу після травми. На 3-тю добу спостереження зазначені показники майже не змінюються та незначно зменшуються лише через 7 днів від початку експерименту, становлячи відповідно  $8,69 \pm 0,09\%$  та  $31,42 \pm 0,56$  мкм. Незважаючи на покращання циркуляції в наступні терміни спостереження, площа судин та їх діаметр залишаються значними

навіть на 21-шу добу після травми, становлячи відповідно  $7,08 \pm 0,07\%$  та  $25,65 \pm 0,27$  мкм.

Формування грануляційної тканини у тварин старечого віку уповільнене, що супроводжується незначною площею судин та їх діаметром на 3-тю добу після травми –  $2,35 \pm 0,02\%$  та  $11,4 \pm 0,06$  мкм відповідно. В наступні терміни спостереження відбувається поступове зростання зазначених параметрів (рис. 3.35), проте навіть через 21 добу після травми вони становлять лише  $12,32 \pm 0,11\%$  та  $21,3 \pm 0,29$  мкм відповідно.

Уже через 1 добу після завдання травми спостерігається високий рівень контамінації поверхні рани тварин старечого віку як умовно–патогенними, так і патогенними мікроорганізмами, що свідчить про значне зниження місцевих механізмів імунного захисту. Так, спостерігається наявність стафілококів та стрептококів у достатньо великій кількості – відповідно  $\leq 90$  та  $\leq 10^2$  КУО. При цьому відзначається поява *Bacillus cereus* та *Aspergillus sp.* у кількості  $\leq 10^2$  КУО.

Через 3 доби після завдання травми спостерігається прогресивний ріст всіх виявлених мікроорганізмів та поява грибів роду *Candida* у кількості  $\leq 10^3$  КУО. Близько 90% всіх мікроорганізмів у біоценозі рани складають умовно–патогенні стафілококи та стрептококи, а також *Bacillus cereus*, кількість яких досягає  $\leq 10^4$  КУО (рис. 3.36). При цьому відзначається поява *E. coli* у кількості  $\leq 10^2$  КУО, що свідчить про фекальне забруднення рани. Цей мікроорганізм був відсутній у тварин молодого та зрілого віку, що може свідчити про значне зменшення активності місцевих механізмів захисту.

Незважаючи на покращання гістологічної картини рани у тварин через 7 днів після травми, мікробіологічне дослідження показало зростання ступеню контамінації поверхні дефекту у щурів старечого віку. Відбувається зростання кількості *Candida sp.* та *E. coli* до  $\leq 10^3$  КУО, вміст *Staphylococcus sp.*, *Bacillus cereus* та *Aspergillus sp.* залишається на рівні попереднього терміну спостереження. Зменшення вмісту стрептококів до кількості  $\leq 10^2$  КУО може свідчити про їх антагонізм із патогенними формами стафілококів та не вказує на покращання мікробіологічного пейзажу рани.

Лише через 14 днів після травми відбувається зменшення кількості стафілококів та *Bacillus cereus* до рівня  $\leq 10^3$  КУО, кількість усіх інших

мікроорганізмів залишається на рівні попереднього терміну спостереження. Але характеризуючи мікробний пейзаж рани в цілому, відзначається переважання патогенних бактерій та грибів, на частку яких припадає близько 80% усіх мікроорганізмів, виділених із поверхні дефекту (рис. 3.37).

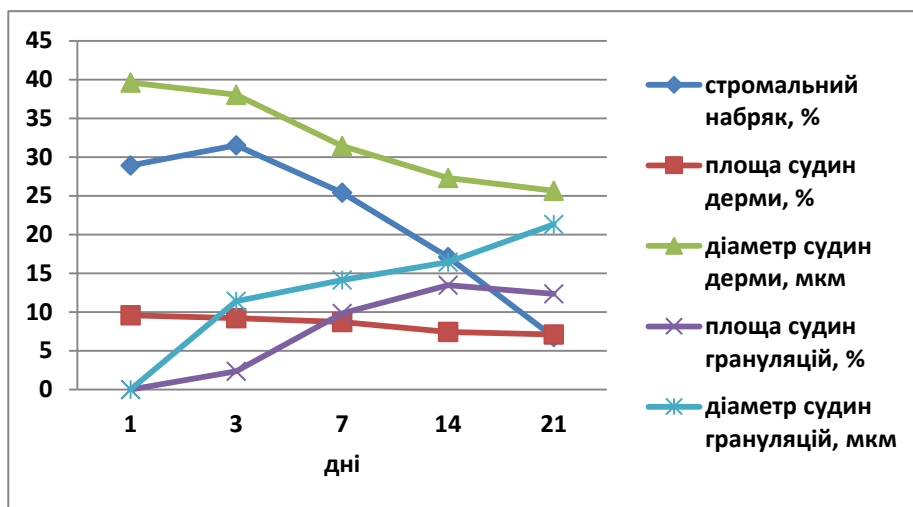


Рисунок 3.35 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин зрілого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку

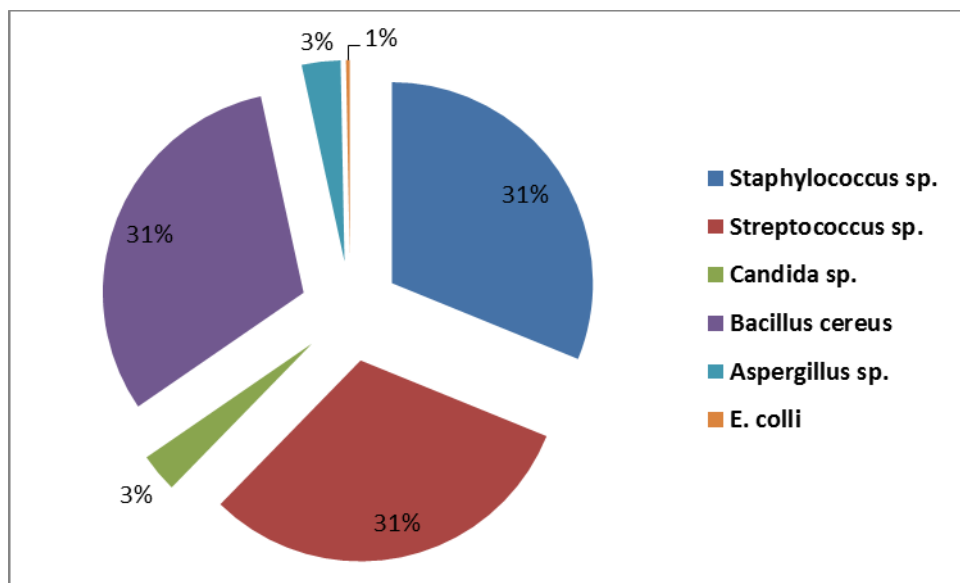


Рисунок 3.36 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура старечого віку через 3 доби після нанесення кислотного опіку

На 21-шу добу після травми відзначається повільне зменшення кількості мікроорганізмів на поверхні рани, що, можливо, пов'язане із завершенням процесів регенерації та зменшенням кількості ексудату та некротів на поверхні дефекту.

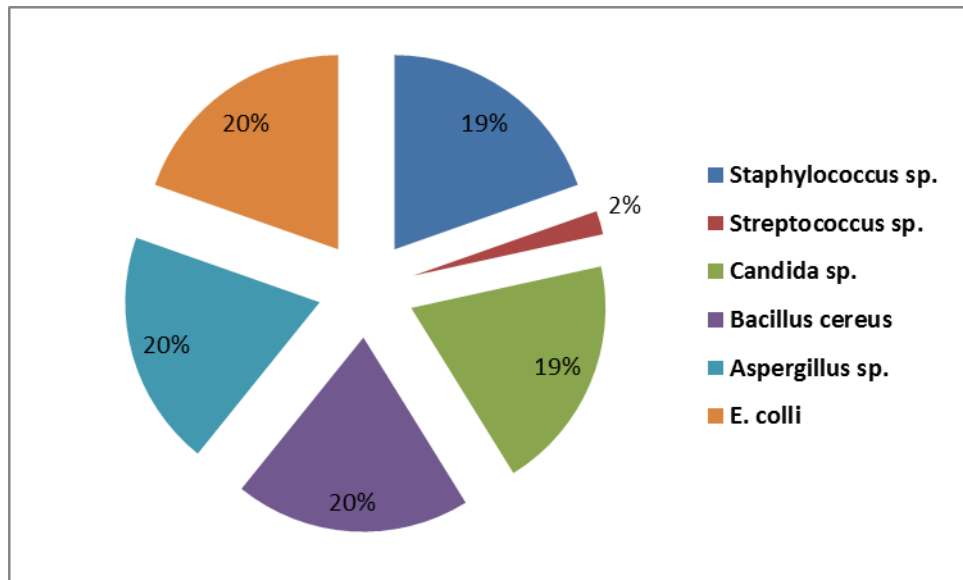


Рисунок 3.37 Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура старечого віку через 14 діб після нанесення кислотного опіку

Кількість *Streptococcus sp.*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus sp.* та *E. coli* не перевищує  $10^2$  КУО, а *Candida sp.* становить  $\leq 70$  КУО. Лише кількість стафілококів, зокрема і патогенних залишається на рівні  $\leq 10^3$  КУО. При цьому відсоток умовно-патогенної мікрофлори перевищує 70%, що свідчить про покращання мікробного пейзажу рани (рис. 3.38).

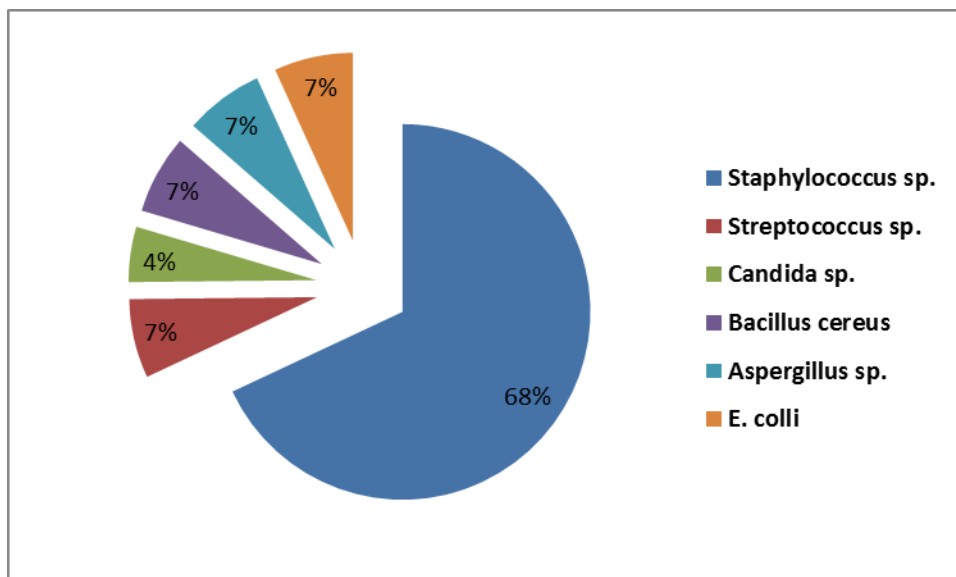


Рисунок 3.38 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура старечого віку через 21 добу після нанесення кислотного опіку

### **3.4. Морфофункціональні зміни шкіри тварин молодого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани**

При застосуванні хітозанової мембрани на поверхні кислотного опіку утворюється захисна плівка, що попереджає втрату рідини та абсорбує надлишок ексудату, який утворюється на поверхні дефекту. Загальна площа дефекту через 1 та 3 доби після травми не змінюється порівняно з контролем та становить відповідно  $1,72 \pm 0,03 \text{ см}^2$  та  $1,58 \pm 0,05 \text{ см}^2$ . Лише через 7 днів після нанесення кислотної травми поверхня дефекту зменшується до  $1,04 \pm 0,03 \text{ см}^2$ , що на 16,94% ( $p=0,0068$ ) менше порівняно з контрольною групою тварин. Площа поверхні дефекту через 14 та 21 добу після травми зменшується до  $0,85 \pm 0,07 \text{ см}^2$  та  $0,32 \pm 0,03 \text{ см}^2$ , що на 21,48% ( $p=0,041$ ) та 20,78% ( $p=0,001$ ) менше, ніж у контрольній групі тварин.

Відносна площа некрозу під хітозановою плівкою становить  $48,34 \pm 0,23\%$ , що на 9,11% ( $p=0,18$ ) менше, ніж у контрольній серії тварин. Динаміка зменшення площі некротично змінених ділянок свідчить про позитивний вплив хітозанової плівки на процеси очищення рани. Так, різниця з контролем через 3, 7 та 14 днів становить відповідно 16,24% ( $p=0,0001$ ), 22,51% ( $p=0,001$ ) та 45,34% ( $p=0,001$ ), що становить  $26,15 \pm 0,18\%$ ,  $12,43 \pm 0,08\%$  та  $3,34 \pm 0,05\%$  від загальної площі дефекту.

Початок формування грануляцій на поверхні рани відповідає контрольній серії тварин, проте вже на 3-тю добу після травми вміст грануляційної тканини становить  $18,35 \pm 0,11\%$ , що на 52,15% ( $p=0,001$ ) перевищує показники контролю. Прискорене утворення грануляційної тканини може бути свідченням наявності хемотаксичних властивостей мономерів хітозану по відношенню до фібробластів. Через 7 днів спостереження площа грануляцій становить  $35,12 \pm 0,15\%$  і достовірно не відрізняється від показників контролю. Проте через 14 днів відзначається істотне зменшення відсотка грануляційної тканини, що свідчить про епітелізацію дефекту і трансформування грануляційної тканини в сполучну з утворенням матриксу регенерату. На 21-шу добу після травми грануляції на поверхні рани відсутні.

У термін між 3-ю та 7-ю добою спостереження відбувається початок формування епітеліальної тканини на поверхні дефекту, і вже через 7 днів її площа становить  $11,34 \pm 0,13\%$ , що майже вдвічі перевищує контроль. Через 14 днів після

травми площа епітелізованих ділянок становить  $55,67 \pm 0,39\%$ , що на  $40,79\%$  ( $p=0.001$ ) перевищує показники контролю. Різниця з контролем через 21 день спостереження є недостовірною, проте відносна площа епітелізованих ділянок рани становить  $92,45 \pm 0,52\%$  ( $p=0.29$ ).

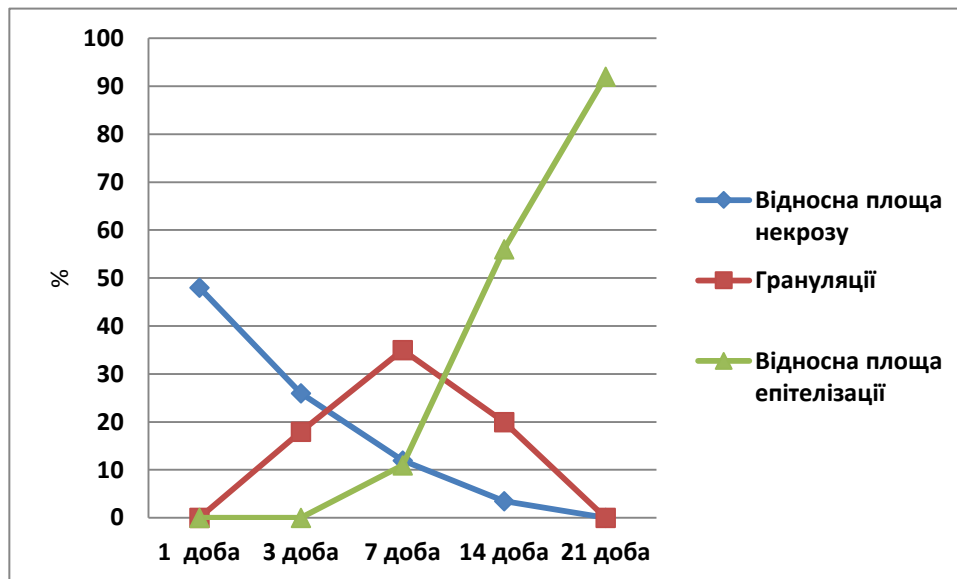


Рисунок 3.39 – Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів молодого віку експериментальної серії

Загалом початок епітелізації у тварин молодого віку зміщується з  $11,60 \pm 0,24$  дня в контролі на  $9,50 \pm 0,25$  ( $p=0.0001$ ) день при застосуванні хітозанової мембрани. При цьому повна епітелізація рани становить у середньому  $18,45 \pm 0,12$  ( $p=0.0165$ ) днів на відміну від контролю, де цей показник становив  $20,60 \pm 0,20$  днів. Швидкість загоєння рани в експерименті зросла до  $0,81 \pm 0,02$  мм/добу ( $p=0.071$ ) проти  $0,72 \pm 0,04$  мм/добу в контрольній групі тварин.

Дослідження цитологічної картини мазків із поверхні рани тварин молодого віку при застосуванні хітозанової плівки виявило зменшення запальних процесів на поверхні дефекту. Так, кількість лейкоцитів у полі зору через 1 добу після опіку становить  $76 \pm 0,24$ , що на  $22,45\%$  ( $p=0.0017$ ) менше, ніж у контрольній серії тварин. Відсоток нейтрофілів та лімфоцитів порівняно з контролем достовірно не відрізняється, проте кількість моноцитів перевищує контроль на  $61,53\%$  ( $p=0.0088$ ), що може бути свідченням зростання активності специфічної імунної відповіді.



Через 3 доби спостерігається міграція клітин як із судинного русла, так і з сусідніх неушкоджених ділянок шкіри. При цьому кількість лейкоцитів у полі зору перевищує попередній термін, що характеризує зростання активності запальної реакції, проте вона є меншою, ніж у контролі про що свідчить зменшення відсотка даних на 14,02% ( $p=0.04$ ). Також на 10,21% ( $p=0.016$ ) зменшується кількість нейтрофілів як головних прозапальних клітин в ушкодженій ділянці. Кількість лімфоцитів та моноцитів становить  $8,9\pm 0,10\%$  та  $1,4\pm 0,06\%$ , що є меншим порівняно із попереднім терміном спостереження, проте перевищує показники контролю на 23,61% ( $p=0.14$ ) та 33,31% ( $p=0.0089$ ). У цитологічних мазках із поверхні рани на 3-тю добу спостереження з'являються макрофаги, полібласти та ендотеліоцити, кількість яких перевищує контроль у 2–3 рази, що свідчить про стимуляцію очищення рани та формування судинної сітки грануляційної тканини. Макрофаги перебувають у стадії активного фагоцитозу, майже не спостерігається наявність гинучих клітин (рис. 3.40). Кардинальною відмінністю цитологічних відбитків експериментальної серії є наявність фібробластів у кількості  $2,4\pm 0,05\%$ , що є підтвердженням хемотаксичних властивостей мономерів хітозану (рис. 3.41).

Через 7 днів спостереження відзначається перехід лімфоцитарно-нейтрофільної реакції в макрофагально-гістіоцитарну, що супроводжується значним зменшенням прозапальних клітин. Кількість нейтрофілів, моноцитів та лімфоцитів становить відповідно  $26,1\pm 0,09\%$ ,  $5,1\pm 0,06\%$  та  $1,2\pm 0,08\%$ , що є меншим за показники контролю відповідно на 20,19% ( $p=0.088$ ), 19,05% ( $p=0.149$ ) та 25,00% ( $p=0.057$ ).

Зменшення запальної інфільтрації супроводжується активізацією процесів очищення рани від некротичних тканин, появою значної кількості активних макрофагів, кількість яких перевищує контроль на 50,0% ( $p=0.0031$ ). На 14,6% ( $p=0,19$ ) перевищує контроль і відсоток полібластів, що є похідними клітин макрофагального ряду. Особливо привертає увагу зростання майже вдвічі кількості фібробластів та ендотеліоцитів, які мають ознаки проліферативної та синтетичної активності, що свідчить про утворення нового матриксу шкіри (рис. 3.41). Кількість цих клітин становить відповідно  $17,4\pm 0,23\%$  та  $4,2\pm 0,03\%$ . Як і у тварин контрольної серії, в цитологічних відбитках тварин експериментальної серії відзначається поява поодиноких епітеліоцитів, які знаходяться переважно на периферії рани.

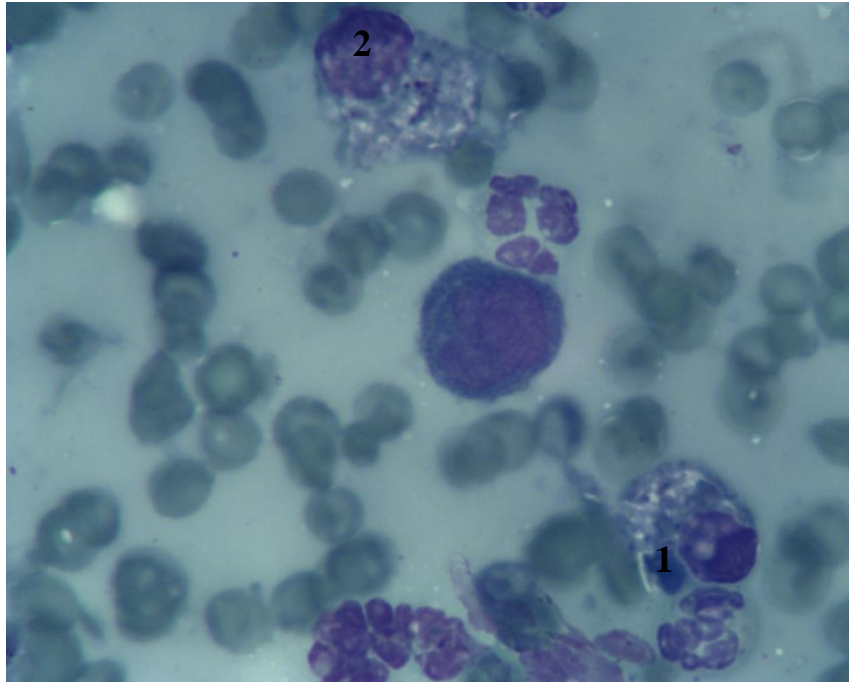


Рисунок 3.39 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 3 доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Нейтрофіл,
2. Лімфоцит.

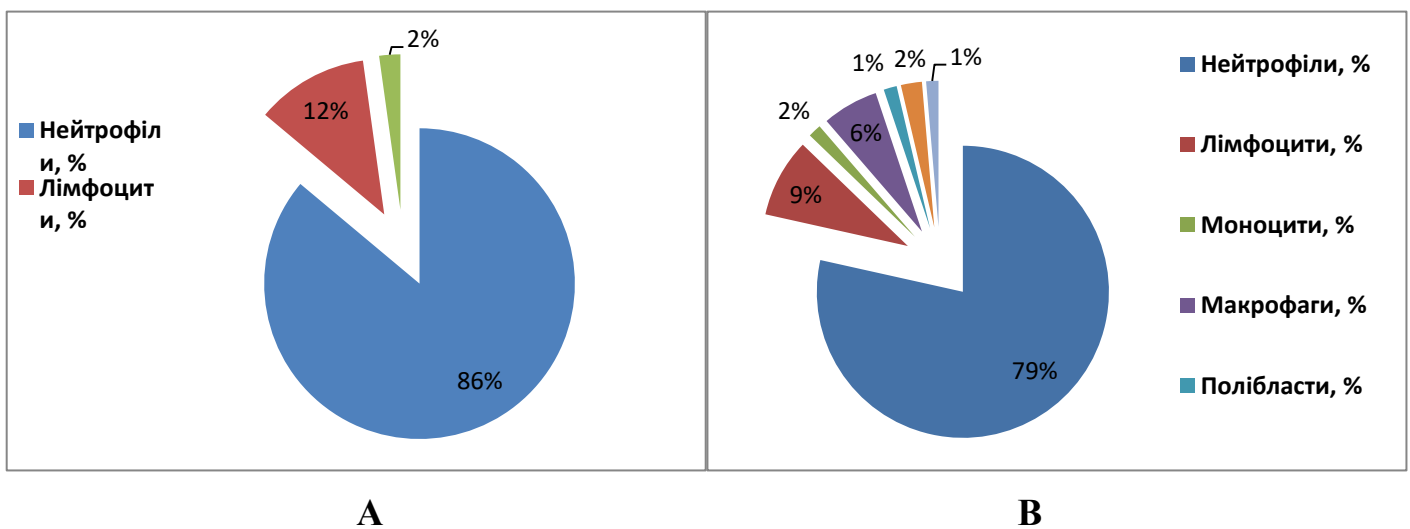


Рисунок 3.40 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани

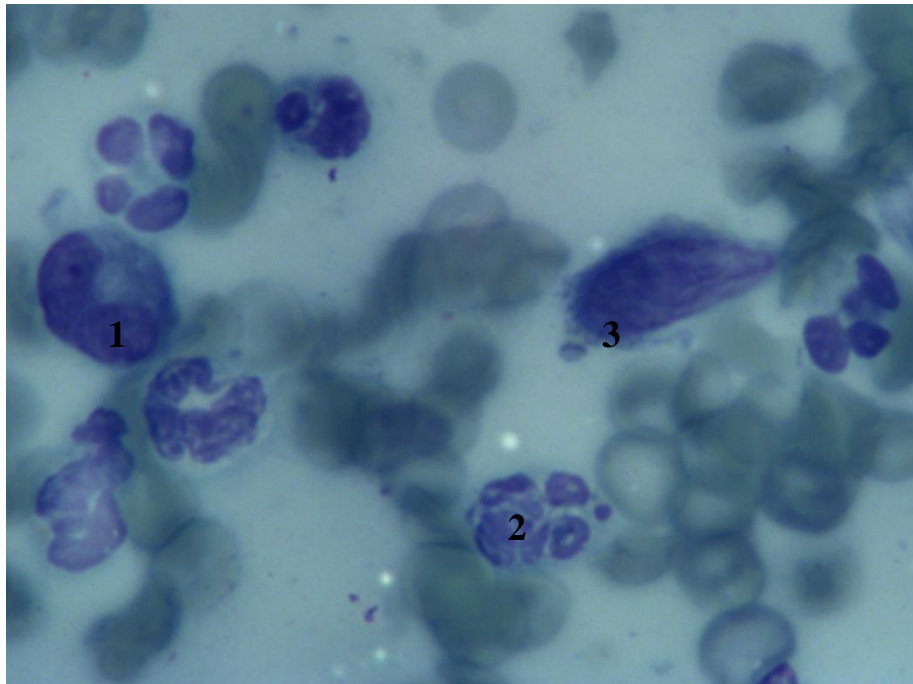


Рисунок 3.41 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 7 діб після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб.. Х600:

1. Еозинофіл,
2. Нейтрофіл,
3. Фібробласт.

Аналіз цитологічних відбитків тварин молодого віку експериментальної серії через 14 днів після травми свідчить про значне зменшення запальної реакції на поверхні дефекту, що супроводжується зменшенням кількості лейкоцитів у полі зору до  $18,6 \pm 0,15$ , що на 37,80% ( $p=0.057$ ) менше за контроль. Відсоток нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів є незначним і становить лише  $18,4 \pm 0,22\%$ ,  $2,7 \pm 0,03\%$ ,  $0,5 \pm 0,02\%$ . Різниця з контролем при цьому становить 31,35% ( $p=0.104$ ), 15,63% ( $p=0.24$ ) та 44,65% ( $p=0.022$ ) відповідно. Відсоток макрофагів на поверхні рани лише на 8,67% ( $p=0.14$ ) перевищує контроль, що свідчить про зниження процесів фагоцитозу. При цьому на 28,15% ( $p=0.0018$ ) зростає кількість полібластів, що також може бути свідченням зменшення активності фагоцитозу в рані. Натомість на поверхні дефекту різко зростає кількість фібробластів та ендотеліоцитів з ознаками проліферації, що свідчить про активний синтез позаклітинного матриксу (рис. 3.42).

Кількість зазначених клітин у рані становить відповідно  $24,8 \pm 0,17\%$  та  $5,8 \pm 0,09\%$ , що майже удвічі перевищує контроль. Як в периферичних, так і центральних ділянках рани формуються групи та пласти епітеліоцитів, які розміщені на поверхні грануляцій.

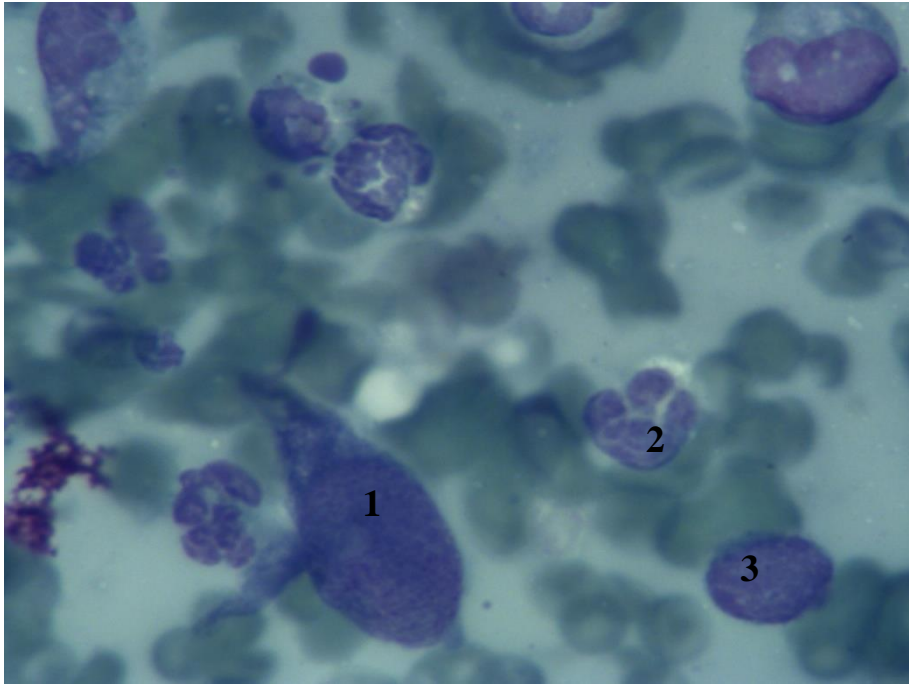


Рисунок 3.42 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 14 діб після нанесення хімічного опіку та застосування хітозаної мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб..Х600:

1. Фібробласт,
2. Нейтрофіл,
3. Лімфоцит.

Через 21 добу після травми запальна реакція на поверхні дефекту відсутня, кількість лейкоцитів у полі зору становить лише  $9,4 \pm 0,06\%$ , відсоток нейтрофілів та лімфоцитів –  $8,2 \pm 0,07\%$  та  $1,4 \pm 0,02\%$ , моноцити не візуалізуються (рис. 3.43). Зменшується також кількість макрофагів порівняно з попереднім терміном спостереження до  $12,6 \pm 0,03\%$ , що свідчить про завершення процесів фагоцитозу. Проте їх кількість достовірно не відрізняється від контрольних показників. Кількість фібробластів та ендотеліоцитів становить відповідно  $39,2 \pm 0,15\%$  та  $9,6 \pm 0,08\%$ , що на  $19,14\%$  ( $p=0.015$ ) та  $29,72\%$  ( $p=0.079$ ) перевищує контрольні показники. При цьому

основними клітинами відбитків з поверхні рани тварин молодого віку при застосуванні хітозанової мембрани є епітеліоцити, які формують суцільні пласти у відбитках з усіх ділянок дефекту, що свідчить про завершення процесів епітелізації ушкодженої поверхні.

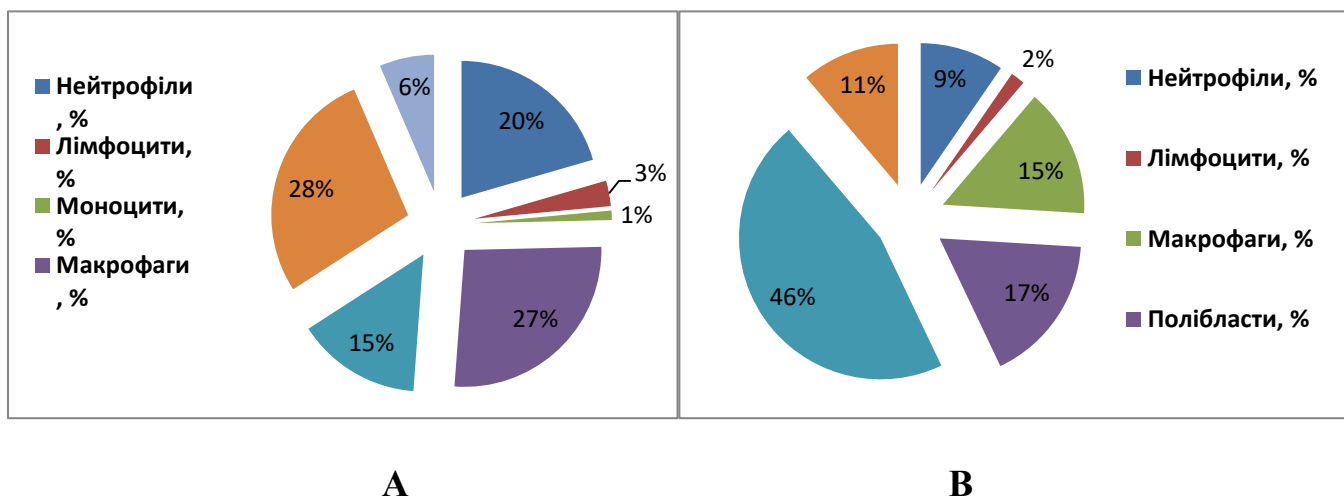


Рисунок 3.43 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин молодого віку через 14 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани

Через 1 добу після завдання травми на гістологічних препаратах біоптатів шкіри тварин молодого віку спостерігається формування нейтрофільно-лімфоцитарної інфільтрації всіх шарів шкіри та формування периваскулярного і стромального набряку. Судини середнього та великого діаметра характеризуються покнокров'ям, у мікроциркуляторному руслі відзначається формування стазів еритроцитів. На поверхні дефекту, під хітозановою плівкою формується некротичний струп, відмежований від підлеглих ділянок нейтрофільним валом. Загалом, гістологічна картина біоптатів на 3-тю добу майже не відрізняється від контрольної серії.

Через 3 доби після завдання травми в глибоких шарах біоптатів відзначається виражений периваскулярний і стромальний набряк. При цьому в поверхневих ділянках не спостерігається вираженого набряку, що може бути свідченням високих

сорбційних властивостей хітозанових мембран. Формування некротичного струпа уповільнюється, що може бути свідченням того, що хітозанова плівка виконує роль захисного бар'єра, під яким відбуваються процеси регенерації шкіри. В поверхневій ділянці рани мігрують макрофаги, вповнені детритом, що свідчить про активне очищення поверхні дефекту (рис. 3.44). Нейтрофільно-лейкоцитарна інфільтрація відзначається переважно у поверхневих шарах рани. В периферичних ділянках дефекту відбувається формування грануляцій під хітозановою плівкою. Грануляційна тканина добре васкуляризована та багата на фібробласти, які синтезують міжклітинний матрикс.

Через 7 днів після завдання травми в умовах використання хітозанової мембрани відзначається зменшення запальної реакції в усіх шарах шкіри. Разом із тим спостерігається зменшення некротичного струпа на поверхні рани, функцію якого бере на себе біополімерна плівка хітозану. Разом із тим високі сорбувальні властивості хітозану забезпечують значне зменшення стромального набряку в поверхневих шарах шкіри. При цьому нейтрофільно-лейкоцитарна інфільтрація майже зникає, що свідчить про перехід запальної фази у фазу регенерації та грануляції.

Порівнянно з контрольною серією значно зростає кількість як макрофагів, що активно фагоцитують некротично змінені ділянки шкіри, так і фібробластів, які синтезують міжклітинний матрикс. Судини глибоких шарів залишаються повнокровними, проте ця реакція є менш вираженою, ніж у контрольній серії тварин. На поверхні дефекту під хітозановою мембраною відбувається продовження формування грануляцій, які покривають всю периферійну ділянку ушкодженої зони та поширюються в центр дефекту (рис. 3.45). Грануляції багаті на судини, в основному малого калібру, та фібробластів.

Через 14 днів після нанесення хімічного опіку в усіх шарах дефекту при застосуванні хітозанової мембрани відбувається зменшення запальної інфільтрації, що змінюється макрофагально-гістіоцитарною. Периваскулярний і стромальний набряк у поверхневих ділянках зникає, залишаючись лише в глибоких шарах біоптатів.

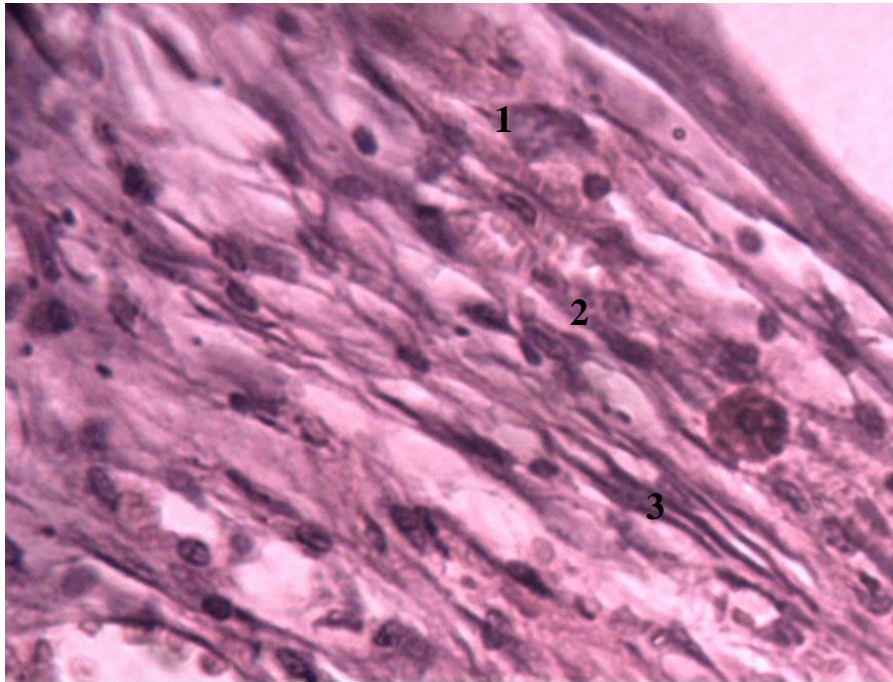


Рисунок 3.44 – Дефект шкіри щура молодого віку на 3 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Макрофаг,
2. Фібробласт,
3. Волокна грануляційної тканини.

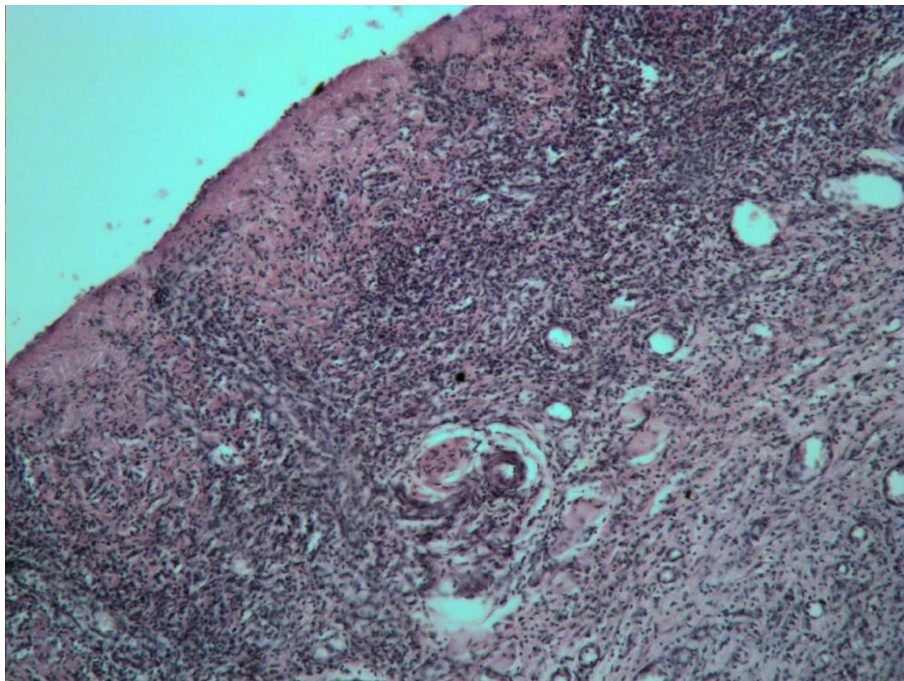


Рисунок 3.45 – Дефект шкіри щура молодого віку на 7 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150.

Загалом відзначаються значне зменшення судинної реакції та нормалізація мікроциркуляції в усіх шарах шкіри, що є сприятливим фактором для розвитку процесів регенерації. Вся поверхня дефекту вкрита грануляційною тканиною, яка розміщується під хітозаною мембраною, некротичний струп майже відсутній. На поверхні грануляцій відзначається формування епітеліального покриву, що покриває всю периферійну зону дефекту.

Вже через 21 добу після травми при використанні хітозаної мембрани відзначається нормалізація будови глибоких шарів шкіри. Повністю зникають стромальний та периваскулярний набряк, повнокров'я судин та стази в капілярах мікроциркуляторного русла. На поверхні грануляцій відзначається формування епітелію, що покриває всю ділянку травми (рис. 3.46).

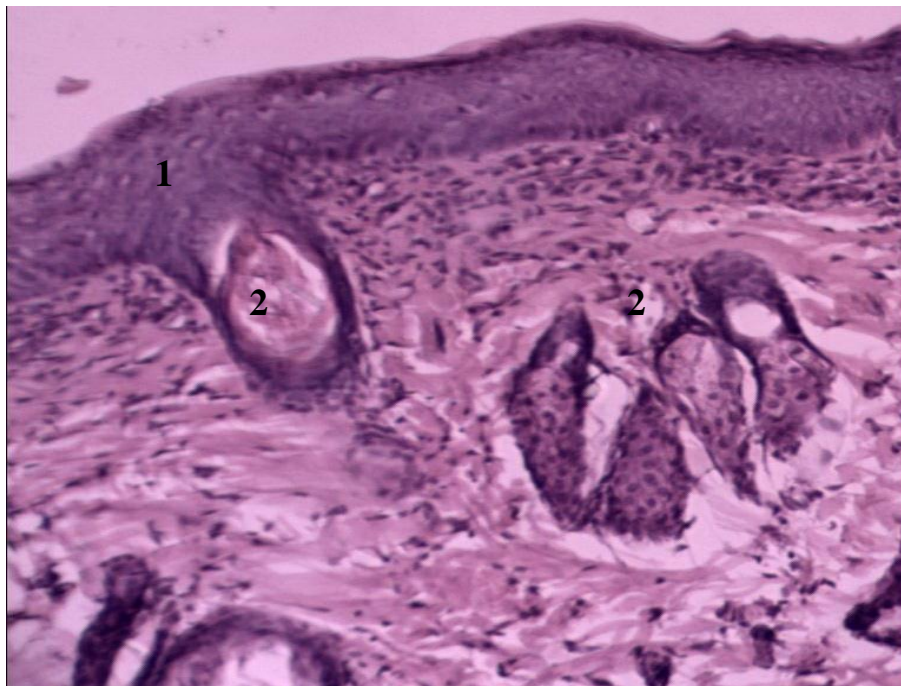


Рисунок 3.46 – Дефект шкіри щура молодого віку на 21 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозаної плівки. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. Епітелізована поверхня шкіри,
2. Залоза.

Морфометрія гістологічних препаратів тварин молодого віку при хімічному опіку шкіри та застосуванні хітозаної мембрани свідчить про зменшення



стромального набряку, одним з механізмів чого можуть бути високі сорбційні властивості хітозану. Так, через 1 добу після травми відносна площа стромального набряку становить  $23,1 \pm 0,17\%$ , що на  $9,77\%$  ( $p=0.012$ ) менше за контрольну групу. При цьому динаміка зменшення стромального набряку свідчить про високі коригуючі властивості хітозаної плівки. Так, площа стромального набряку через 3, 7 та 14 днів після травми становить відповідно  $17,56 \pm 0,54\%$ ,  $10,92 \pm 0,39\%$  та  $4,48 \pm 0,13\%$ , що на  $24,02\%$  ( $p=0.0019$ ),  $30,18\%$  ( $p=0.0035$ ) та  $48,21\%$  ( $p=0.0019$ ) менше за контрольні показники. Через 21 добу після травми стромальний набряк відсутній (рис. 3.47). При цьому застосування хітозаної плівки позитивно впливає також на показник відносної площі судин дерми, площа яких через 3 та 7 днів після травми зменшується порівняно з контролем на  $5,98\%$  ( $p=0.017$ ) та  $6,87\%$  ( $p=0.68$ ). Середній діаметр судин дерми також зменшується з більш високою швидкістю, що свідчить про зменшення їх повнокров'я. Різниця з контролем на 3-тю та 7-му добу після травми становить відповідно  $8,86\%$  ( $p=0.0077$ ) та  $9,19\%$  ( $p=0.0032$ ). В інші терміни спостереження різниця є недостовірною.

Формування грануляційної тканини супроводжується її високою васкуляризацією. В умовах застосування хітозану для лікування хімічного опіку відносна площа судин грануляційної тканини становить відповідно до термінів спостереження  $4,75 \pm 0,08\%$ ,  $17,32 \pm 0,28\%$ ,  $14,25 \pm 0,04\%$  та  $9,43 \pm 0,21\%$ . При цьому динаміка зростання площі судин грануляцій значно перевищує контрольні показники. При цьому відзначається також зростання діаметра судин грануляційної тканини, що дорівнює  $13,5 \pm 0,17$  мкм через 3 доби після травми,  $16,13 \pm 0,08$  мкм – через 7 днів,  $16,21 \pm 0,03$  мкм – через 14 та  $16,85 \pm 0,07$  мкм – через 21 добу після нанесення кислотного опіку.

Мікробіологічні показники поверхні рани тварин експериментальної серії значно відрізняються від контролю, що може бути обумовлено бактеріостатичними властивостями хітозаної мембрани, про що свідчать дослідження численних авторів [54, 115]. При цьому на поверхні дефекту під плівкою хітозану відзначається наявність лише стафілококів та стрептококів, які є нормальною мікрофлорою шкіри у кількості  $\leq 80$  КУО та  $\leq 90$  КУО відповідно.

Через 3 доби відзначається зростання кількості стафілококів до рівня  $\leq 10^2$  КУО, що не є патологічною реакцією та не перевищує показники нормальної мікрофлори, кількість стрептококів знаходиться на рівні попереднього терміну спостереження. В цей термін з'являються поодинокі колонії грибів роду *Candida* в кількості  $\leq 80$  КУО. При цьому відзначається поява *Bacillus cereus* у кількості  $\leq 10^2$  КУО, які разом зі стафілококами формують основне бактеріальне навантаження на поверхню рани (рис. 3.48).

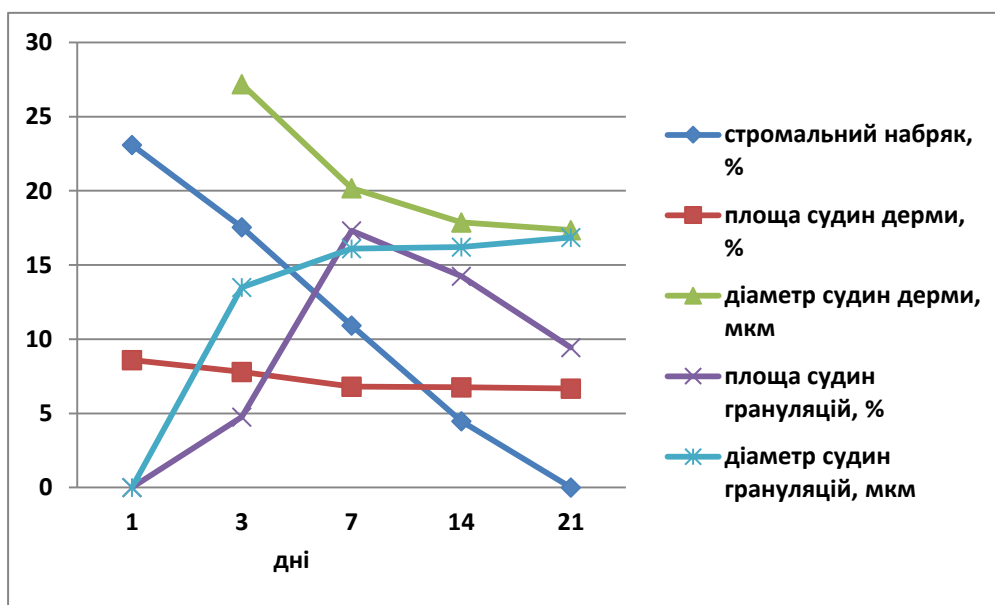


Рисунок 3.47 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин молодого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки

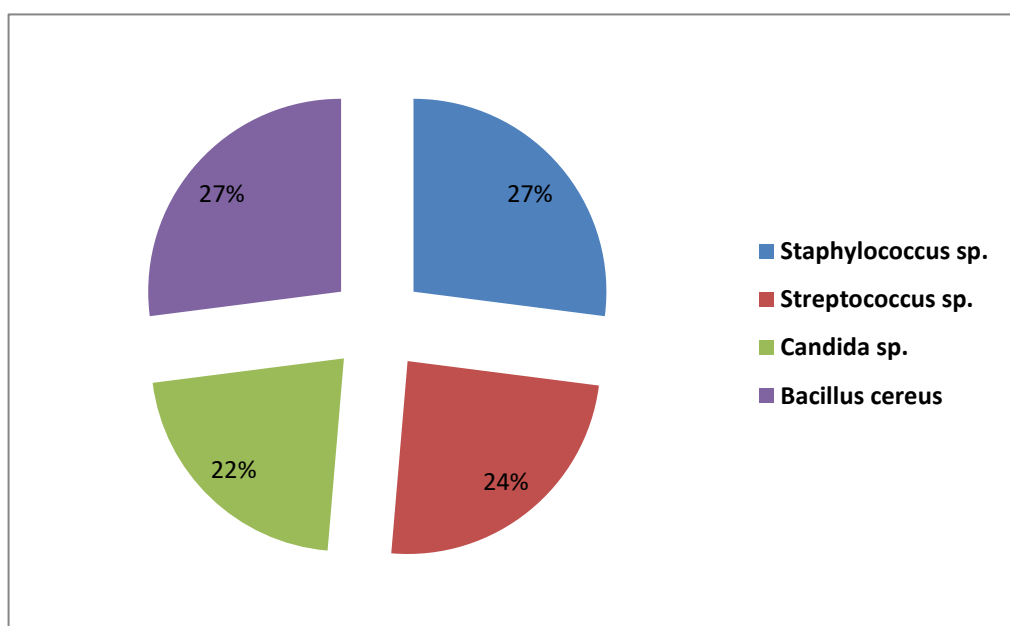


Рисунок 3.48 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура молодого віку через 3 доби після нанесення кислотного опіку при використанні хітозаної плівки.

Через 7 днів після травми в умовах застосування хітозаної плівки відбувається незначне зростання кількості стрептококів та грибів роду *Candida* до рівня  $\leq 10^2$  КУО з подальшим їх зменшенням через 14 днів після травми. Кількість стафілококів та *Bacillus cereus* упродовж цих термінів спостереження не змінювалася. Через 21 добу після травми бактеріологічне дослідження змивів з поверхні рани не виявило наявності патогенних мікроорганізмів (рис. 3.49). Близько половини мікробного навантаження становлять стафілококи, виділені в кількості  $\leq 10^2$  КУО. Також відзначається наявність незначної кількості стрептококів та *Bacillus cereus*, що свідчить про суттєві бактеріостатичні властивості хітозаної мембрани.

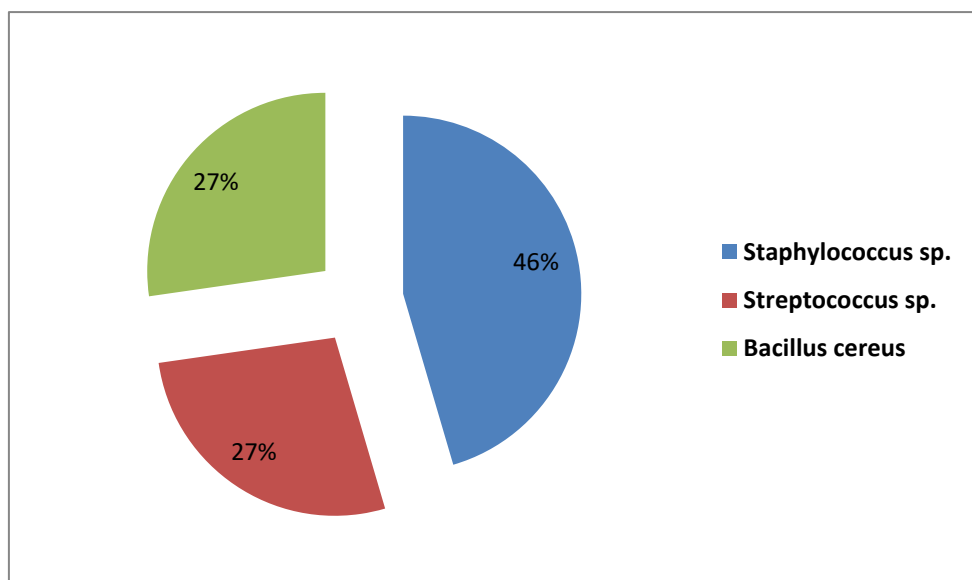


Рисунок 3.49 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щура молодого віку через 21 добу після нанесення кислотного опіку при використанні хітозаної плівки

Загалом використання хітозану дозволило зменшити мікробну контамінацію рани на перших термінах спостереження, що є можливим механізмом прискорення процесів регенерації рани.

### 3.5. Морфофункціональні зміни шкіри тварин зрілого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани

У тварин зрілого віку після нанесення хімічного опіку під хітозановою мембраною формується зона некрозу, що обмежує поширення кислоти. На першу добу спостереження площа некротизованих тканин становить  $53,24 \pm 0,31\%$  та не відрізняється від контрольної групи тварин. Проте вже на 3-тю добу спостереження при застосуванні хітозанової мембрани площа некрозу менша за контроль на  $21,47\%$  ( $p=0.001$ ), що становить  $34,21 \pm 0,42\%$  від загальної поверхні рани. На 7-му та 14-ту добу відбувається прогресуюче зменшення площі некротизованих тканин, відсоток яких становить відповідно  $14,02 \pm 0,23\%$  та  $5,56 \pm 0,11\%$ . Зменшення відносної площі некротизованих ділянок на  $19,84\%$  ( $p=0,001$ ) та  $32,45\%$  ( $p=0.07$ ) порівняно з контрольною серією тварин свідчить про ефективність застосування хітозанової плівки у тварин зрілого віку при хімічному опіку. На 21-шу добу спостереження некротично змінені ділянки на поверхні опікової рани відсутні.

При цьому загальна площа дефекту у відповідні терміни спостереження становить  $1,75 \pm 0,05 \text{ см}^2$ ,  $1,63 \pm 0,14 \text{ см}^2$ ,  $1,11 \pm 0,04 \text{ см}^2$ ,  $0,80 \pm 0,12 \text{ см}^2$  та  $0,42 \pm 0,08 \text{ см}^2$ . Достовірна різниця з контролем для загальної площі дефекту спостерігається через 7 та 21 добу після травми і становить відповідно  $9,99\%$  ( $p=0.04$ ) та  $17,45\%$  ( $p=0.02$ ). Можливо, починаючи з 7-ї доби спостереження відбувається активація процесів епітелізації, що призводить до прискореного зменшення площі дефекту у тварин зрілого віку.

Як і в контрольній серії експерименту, формування грануляцій на поверхні дефекту починається через 3 доби після травми, проте відсоток грануляційної тканини в цей термін в експериментальній серії становить  $14,25 \pm 0,15\%$ , що на  $56,07\%$  ( $p=0.0016$ ) вище за контроль. Через 7 днів спостереження відбувається зростання кількості грануляцій на поверхні рани порівняно з попереднім терміном спостереження, які займають як центральні, так і периферійні відділи. Проте різниця з контролем є недостовірною. Через 14 днів відзначається зменшення площі грануляційної тканини до  $18,56 \pm 0,12\%$ , що свідчить про початок її епітелізації.

Різниця з контролем становить при цьому становить 18,71% ( $p=0.0026$ ), що свідчить про прискорення процесів епітелізації грануляцій.

Епітелізація поверхні рани за даним планіметрії розпочинається на 7-му добу (рис. 3.50). Відносна площа епітелізованих ділянок при цьому становить  $8,32\pm 0,10\%$ , що майже в чотири рази перевищує контроль та свідчить про наявність стимулюючих властивостей хітозану на процеси епітелізації рани. Відсоток епітелію на поверхні травми через 14 та 21 добу спостереження становить відповідно  $47,83\pm 0,52\%$  та  $89,44\pm 0,41\%$ , що на 39,81% ( $p=0.0001$ ) та 17,90% ( $p=0.021$ ) перевищує контроль. Як видно з графіка (рис. 3.50), на 21-шу добу тканинний склад поверхні рани представлений винятково епітеліальною тканиною.

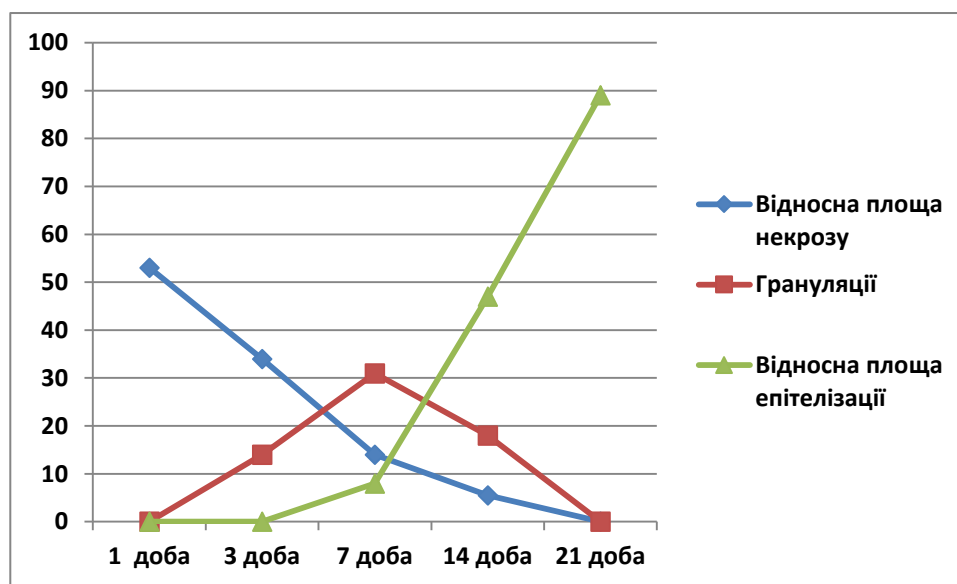


Рисунок 3.50 – Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів молодого віку експериментальної серії

Загалом початок епітелізації при застосуванні хітозану у тварин зрілого віку розпочинається на  $11,20\pm 0,10$  день при показнику повної епітелізації поверхні на  $19,20\pm 0,05$  добу, що на 7,44% ( $p=0.0005$ ) та 8,36% ( $p=0.0012$ ) менше за контроль. Швидкість загоєння рани зростає незначно – на 7,41% ( $p=0.09$ ), що становить  $0,76\pm 0,04$  мм/добу.

При застосуванні хітозаної мембрани у тварин зрілого віку на опікову поверхню в цитологічних відбитках з поверхні рани через 1 добу після травми візуалізуються лейкоцити у кількості  $80,32\pm 0,21$  у полі зору. Незважаючи на низький

рівень прозапальних клітин у тварин контрольної серії, відсоток лейкоцитів при застосуванні хітозанової плівки на 7,66% ( $p=0.10$ ) менший за контроль. При цьому кількість нейтрофілів не відрізняється від контрольної серії і становить  $78,45 \pm 0,19\%$ . Проте достовірно зростає вміст клітин специфічної імунної відповіді – лімфоцитів та моноцитів відповідно на 172,12% ( $p=0,037$ ) та 19,23% ( $p=0.25$ ). Кількість даних клітин становить відповідно  $6,15 \pm 0,06\%$  та  $3,1 \pm 0,05\%$ .

На 3-тю добу після травми, незважаючи на зростання кількості лейкоцитів у полі зору до  $82,15 \pm 1,4$ , їх вміст на поверхні рани є меншим за контроль на 17,31% ( $p=0.0039$ ), що свідчить про меншу вираженість запальної реакції при застосуванні хітозану. Ця гіпотеза підтверджується зменшенням відсотка нейтрофілів у відбитках на 24,72% ( $p=0.0062$ ) порівняно з контролем. Їх вміст у рані становить лише  $76,5 \pm 0,26\%$  від загальної кількості клітин. При цьому відзначається зростання вмісту лімфоцитів та моноцитів порівняно з контрольною серією тварин на 19,69% ( $p=0.063$ ) та 61,53% ( $p=0.082$ ), хоча рівень останніх є нижчим, ніж у попередній термін спостереження. Всі прозапальні клітини характеризуються наявністю ознак активності, що свідчить про вираженість запальної реакції. В мазках з усіх відділів рани спостерігається зростання кількості макрофагів та полібластів, рівень яких зростає у 3 та 1,5 рази відповідно порівняно з контролем та становить  $6,4 \pm 0,10\%$  та  $1,5 \pm 0,02\%$ . Наявність фагоцитуючих клітин зумовлює більш швидке очищення рани від некротично змінених тканин та прискорення утворення грануляцій (рис. 3.51). Позитивний вплив хітозану на процеси регенерації рани підтверджується появою у мазках фібробластів та ендотеліоцитів з ознаками проліферативної активності. Їх кількість у цитологічних мазках становить  $2,2 \pm 0,12\%$  та  $1,2 \pm 0,05\%$  відповідно (рис. 3.52).

Через 7 днів після нанесення опіку відзначається зменшення лейкоцитарної реакції. Кількість цих клітин становить  $42,65 \pm 0,51$  у полі зору, що на 19,61% ( $p=0.08$ ) менше за контроль. Зменшується також кількість нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів як порівняно з попереднім терміном спостереження, так і порівняно з контролем. Відсоток цих клітин становить відповідно  $46,8 \pm 0,35\%$ ,  $4,3 \pm 0,05\%$  та  $1,1 \pm 0,04\%$ . Морфологічно відзначається зменшення активності клітин запалення, що характеризує перехід регенерації у фазу грануляцій. Достатньо високим залишається

рівень макрофагів –  $23,2 \pm 0,15\%$ , що є свідченням процесів очищення рани від некротичних мас та бактерій.

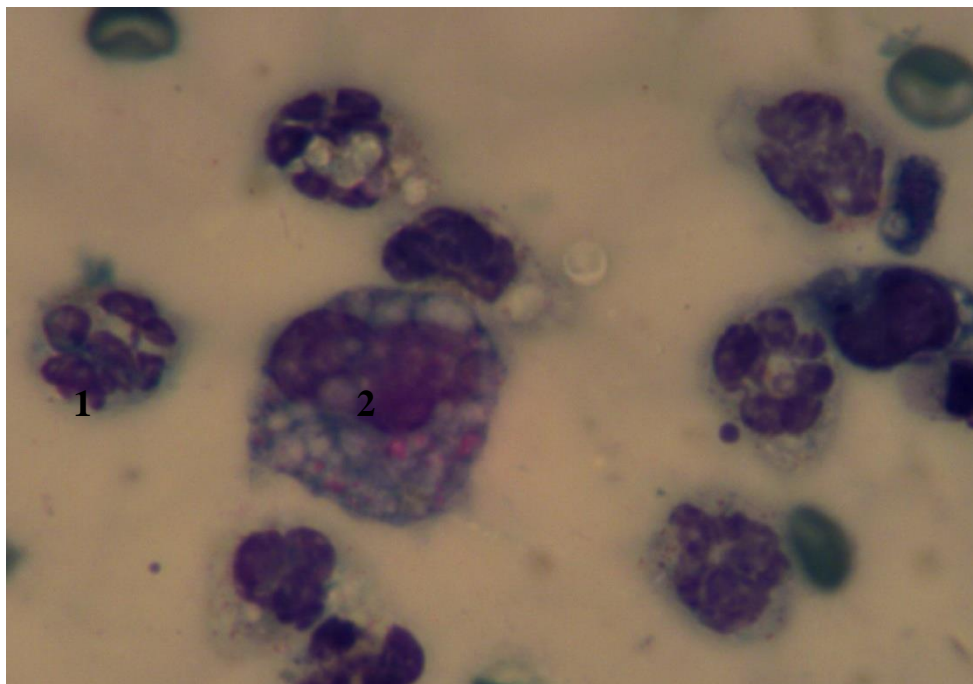


Рисунок 3.51 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 3 доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл.

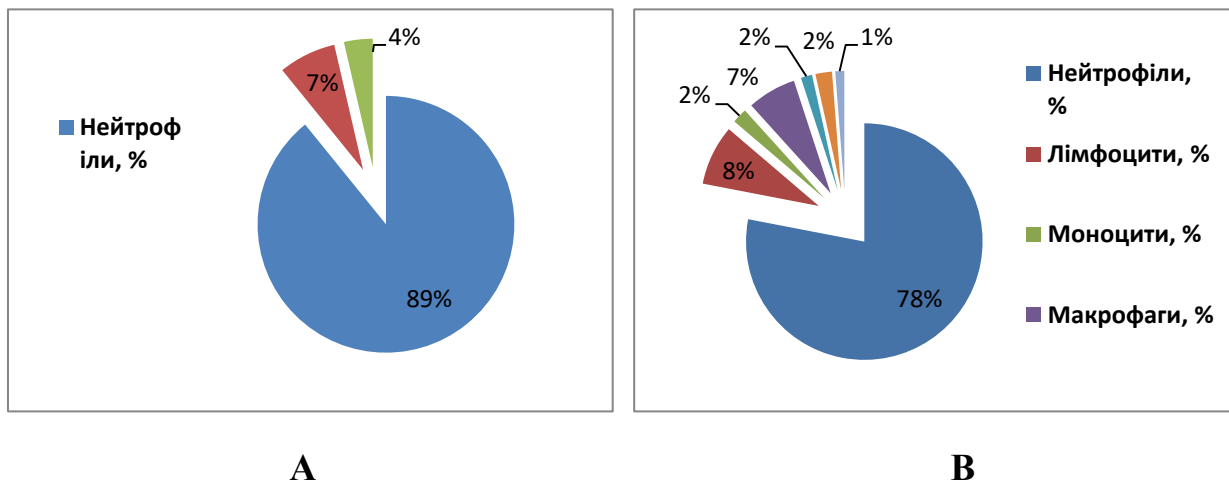


Рисунок 3.52 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани

Кількість полібластів становить  $7,8 \pm 0,09\%$ , що на  $23,80\%$  ( $p=0.074$ ) більше за контроль. Відсоток фібробластів зростає у 8 разів порівняно з попереднім терміном спостереження та у 2 рази порівняно з контролем. Більшість клітин – з ознаками проліферативної та синтетичної активності (рис. 3.53). Кількість ендотеліоцитів становить  $3,8 \pm 0,06\%$ , що свідчить про активний неоваскулогенез у новоутвореній грануляційній тканині. В усіх препаратах трапляються епітеліоцити, причому на периферії рани вони формують групи, що свідчить про прискорену епітелізацію поверхні дефекту.

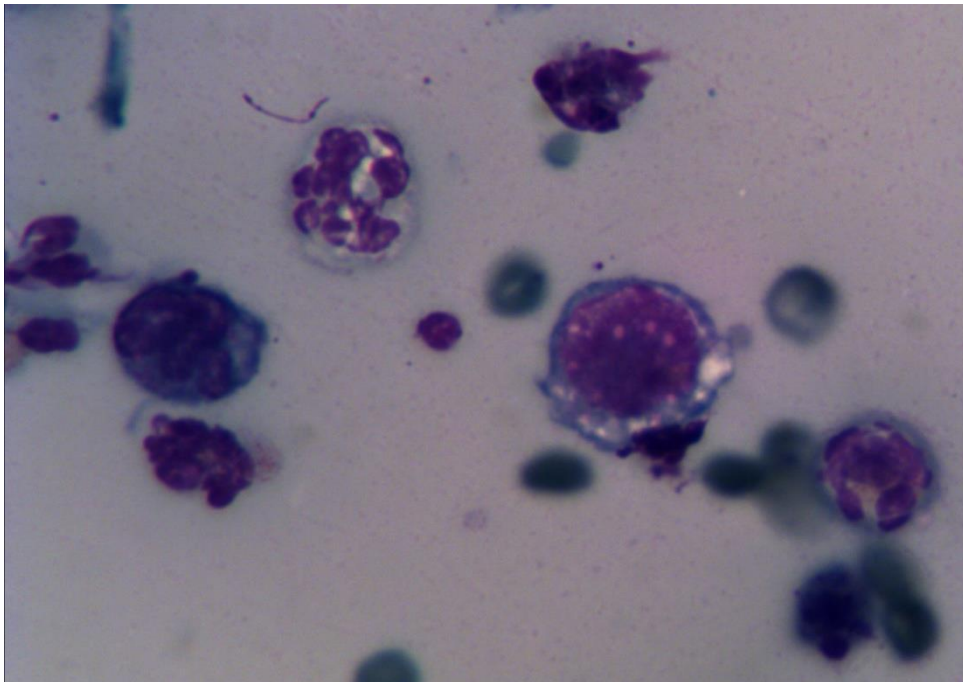


Рисунок 3.53 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 7 діб після нанесення хімічного опіку та застосування хітозаної мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб.. X600

Через 14 днів після хімічного опіку шкіри відзначається подальше зменшення кількості лейкоцитів у мазках з поверхні рани до  $28,2 \pm 0,12\%$ , що на  $18,27\%$  ( $p=0.088$ ) менше за контроль. Відсоток нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів зменшується у 1,5 рази порівняно з контролем і становить відповідно  $25,7 \pm 0,17\%$ ,  $3,1 \pm 0,06\%$  та  $0,7 \pm 0,02\%$ . Зменшення активності запальних процесів характеризується відсутністю ознак активності прозапальних клітин з поверхні рани (рис. 3.54). Вміст макрофагів в мазках починає зменшуватися і становить  $21,8 \pm 0,32\%$ , що характеризує зниження процесів фагоцитозу в рані. Помітні гинучі клітини та макрофаги з ознаками



деструкції. Натомість відсоток полібластів зростає на 32,63% ( $p=0.0079$ ) порівняно з контролем, що також є свідченням зменшення активності процесів фагоцитозу. Також відзначається подальше зростання кількості фібробластів та ендотеліоцитів, що свідчить про активні процеси синтезу позаклітинного матриксу. Кількість цих клітин становить відповідно  $21,8\pm 0,09\%$  та  $6,2\pm 0,11\%$ .

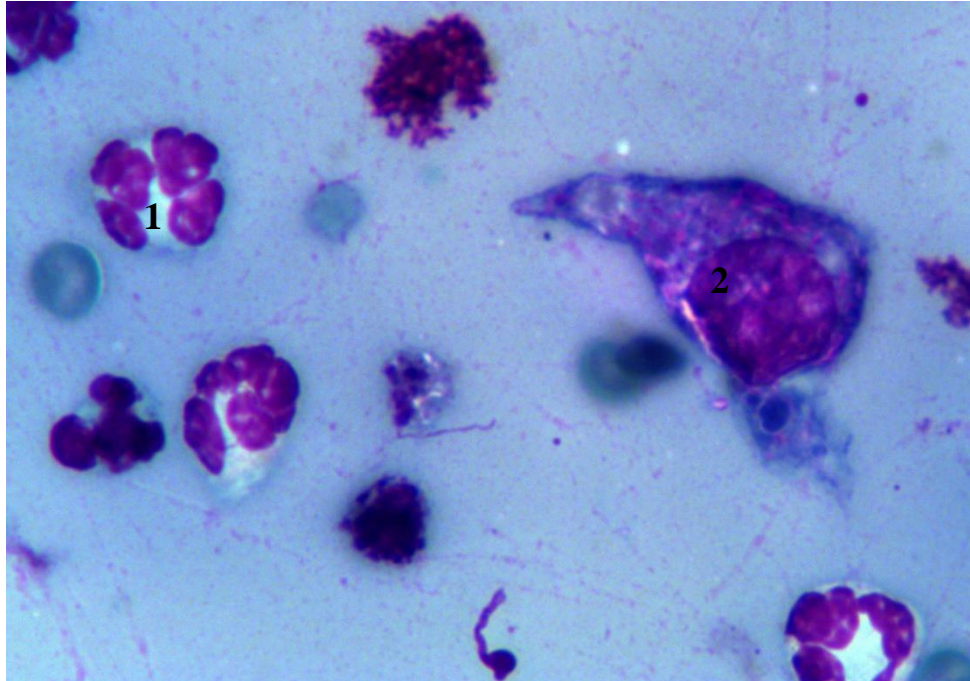


Рисунок 3.54 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 14 діб після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Нейтрофіл,
2. Макрофаг.

На 21-шу добу після травми при застосуванні хітозанових мембран відзначається відсутність запальної реакції, про що свідчить зменшення кількості лейкоцитів до  $9,7\pm 0,05$  у полі зору та відсотка нейтрофілів і лімфоцитів до  $10,8\pm 0,09\%$  та  $0,8\pm 0,03\%$ . Як і у тварин молодого віку, в мазках із поверхні рани відсутні моноцити (рис. 3.55). Зменшується також рівень макрофагів до  $9,3\pm 0,11\%$ , що є меншим за контроль на 26,20% ( $p=0.032$ ). Порівняно з контролем спостерігається зростання відсотка полібластів, кількість яких становить  $15,8\pm 0,07\%$ . На 32,73% ( $p=0.016$ ) збільшується вміст фібробластів. Морфологічно фіксується їх висока синтетична та проліферативна активність. Кількість ендотеліоцитів становить

8,7±0,12%, що на 27,94% (p=0.02) перевищує контроль (рис. 3.56). В усіх мазках спостерігаються масиви епітеліоцитів, що свідчить про значну епітелізацію поверхні рани при використанні хітозанових мембран.

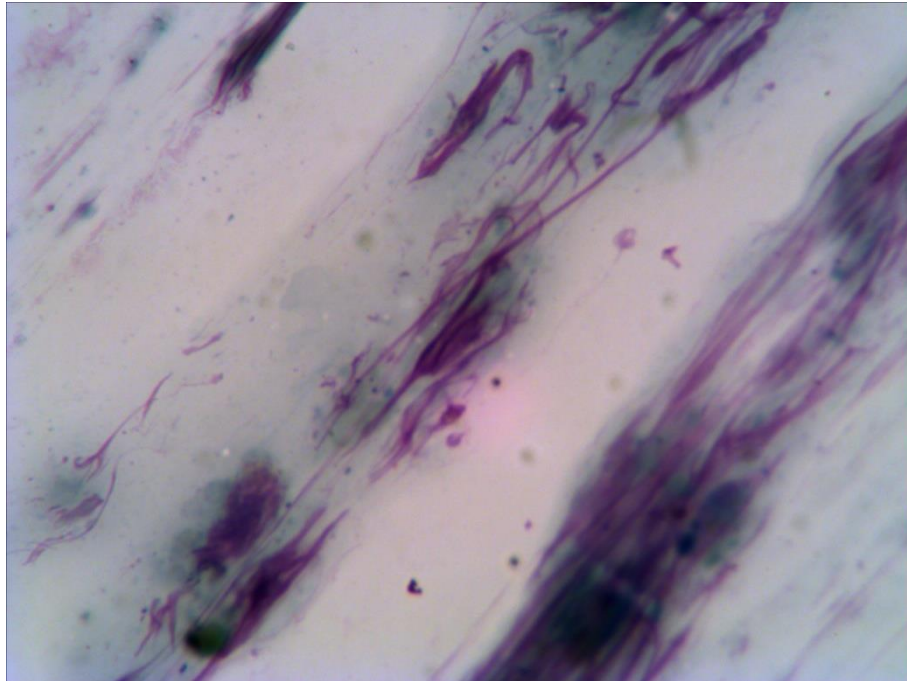
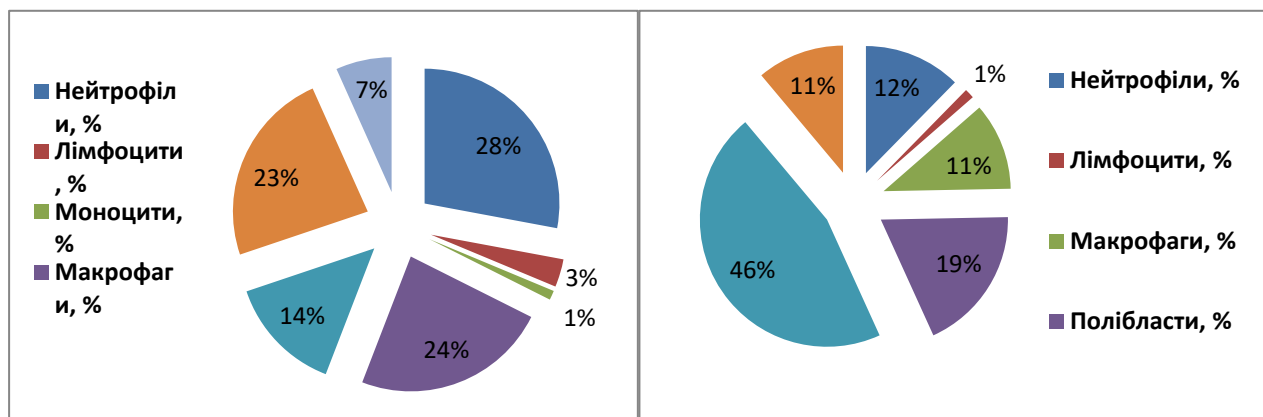


Рисунок 3.56 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 21 добу після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб.. X600



**А**

**В**

Рисунок 3.56 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин зрілого віку через 14 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани

Гістологічна картина біоптатів рани на першу добу спостереження при застосуванні хітозанової мембрани характеризується формуванням периваскулярного та стромального набряку в усіх шарах ушкодженої шкіри з переважанням у глибоких ділянках. Судини шкіри повнокровні та розширені, фіксуються поодинокі стази еритроцитів у капілярах. На поверхні рани під хітозановою мембраною формується некротичний струп, більш виражений у периферичних ділянках рани. Під струпом відзначається нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація, що поширюється углиб шкіри.

Через 3 доби після травми відзначається зменшення периваскулярного і стромального набряку в поверхневих шарах шкіри, що може бути свідченням високих сорбуючих властивостей хітозанових мембран, унаслідок чого відбувається зменшення ексудації на поверхні дефекту. Некротичний струп виявляє таку саму площу, що і в попередній термін, проте відбувається поява макрофагів, які фагоцитують ушкоджені тканини шкіри. Нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація поширюється углиб шкіри, що свідчить про виражену запальну реакцію в травмованому органі. Стромальний та периваскулярний набряк в глибоких шарах шкіри не зменшується, проте зникають стази еритроцитів у судинах мікроциркуляторного русла (рис. 3.57).

На відміну від контрольної серії через 7 днів при застосуванні хітозанової мембрани відзначається значне зменшення стромального набряку біля поверхні дефекту. Некротична кірка також стоншується та зменшується від периферії до центру. Під мембраною хітозану, що виконує функцію некротичного струпа відбувається формування грануляційної тканини, що розповсюджується в напрямку від периферії до центру. Грануляційна тканина представлена невпорядкованими волокнами сполучної тканини, серед яких візуалізуються фібробласти та судини мікроциркуляторного русла (рис. 3.58). Більшість фібробластів характеризуються ознаками проліферативної та секреторної активності. В цей термін відбувається трансформація нейтрофільно-лейкоцитарної інфільтрації у макрофагально-гістіоцитарну та перехід фази запалення у фазу грануляцій.

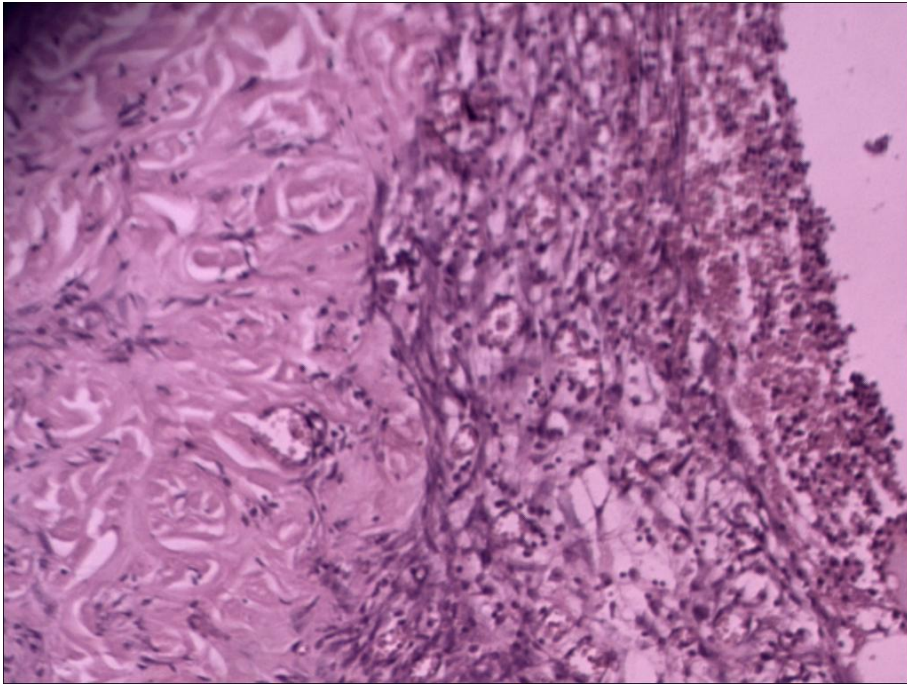


Рисунок 3.57 – Дефект шкіри щура зрілого віку на 3 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. Х400

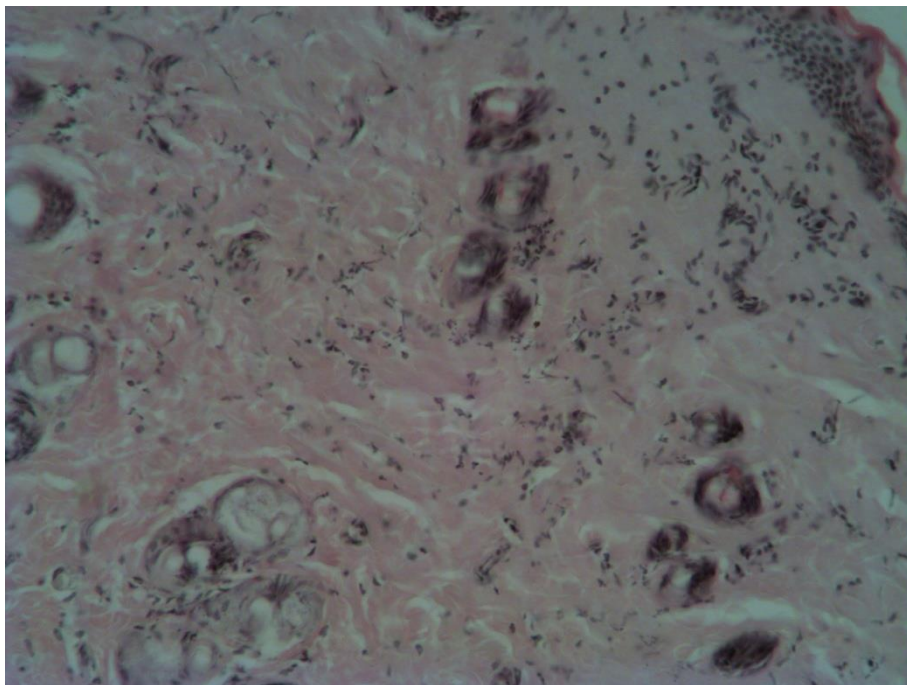


Рисунок 3.58 – Дефект шкіри щура зрілого віку на 7 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. Х400

На 14-ту добу після нанесення кислотного опіку при застосуванні хітозанової мембрани біля поверхні дефекту відзначається значне зменшення стромального набряку, який відсутній на більшості препаратів. У глибоких шарах біоптатів спостерігаються залишки стромального та периваскулярного набряків, проте вони значно менші, ніж у контрольній серії тварин. Як на поверхні шкіри, так і в глибоких ділянках відбувається значне зменшення нейтрофільно-лімфоцитарної інфільтрації, що свідчить про зменшення запальної реакції. При цьому на поверхні шкіри спостерігається зменшення площі некротичних ділянок та формування грануляційної тканини під поверхнею плівки та некротичного струпа. Грануляції вповнюють всю поверхню рани та вкриті зверху епітеліальною тканиною на периферії дефекту.

Через 21 день після травми не відзначається периваскулярний та стромальний набряки в усіх шарах шкіри. Судини нормального діаметра, зникає повнокров'я та стази еритроцитів. Поверхня рани майже повністю покрита епітеліальною тканиною, під якою знаходяться залишки грануляцій. Місцями відбувається формування рубців, проте їх кількість значно менша, ніж у контрольній серії тварин (рис. 3.59).

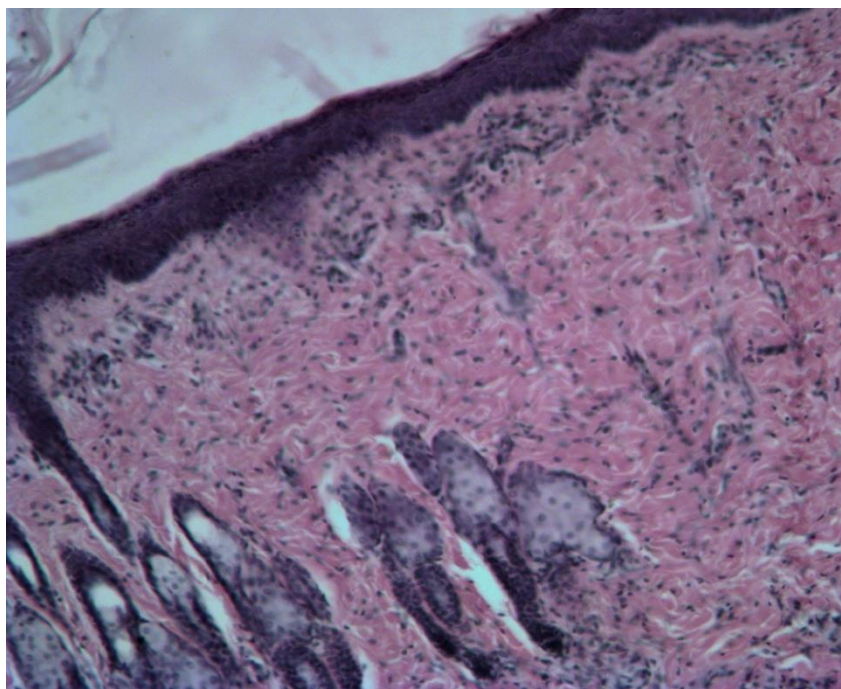


Рисунок 3.59 – Ділянка шкіри щура зрілого віку на 21 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. Х400

Морфометрія гістологічних препаратів шкіри тварин зрілого віку не показала достовірної різниці з контролем відносної площі стромального набряку на 1-шу добу після травми. Проте вже з 3-ї доби відзначається зменшення площі набряку до  $20,1 \pm 0,17\%$ , що на  $24,72\%$  ( $p=0.012$ ) менше за показники контролю. В подальшому, на 7 та 14 добу після травми відносна площа стромального набряку становить відповідно  $10,3 \pm 0,24\%$  та  $6,62 \pm 0,08\%$ , що на  $25,90\%$  ( $p=0.01$ ) та  $27,43\%$  ( $p=0.0058$ ) менше контрольних значень. На 21-шу добу спостереження не відзначається набряк як у контрольній серії, так і в експерименті.

Відносна площа судин дерми не відрізняється від контролю в усі терміни спостереження та становить відповідно  $8,57 \pm 0,08\%$ ,  $8,62 \pm 0,17\%$ ,  $7,01 \pm 0,03\%$ ,  $6,54 \pm 0,06\%$  та  $6,58 \pm 0,11\%$ . При цьому діаметр судин дерми через 3 дні після травми зменшується порівняно з контролем на  $8,74\%$  ( $p=0.0079$ ), що може свідчити про зменшення повнокрів'я судин шкіри. Через 7 днів різниця з контролем становить  $13,74\%$  ( $p=0.11$ ) і в подальшому є недостовірною. У кінцевий термін спостереження діаметр судин дерми становить  $19,79 \pm 0,24\%$ .

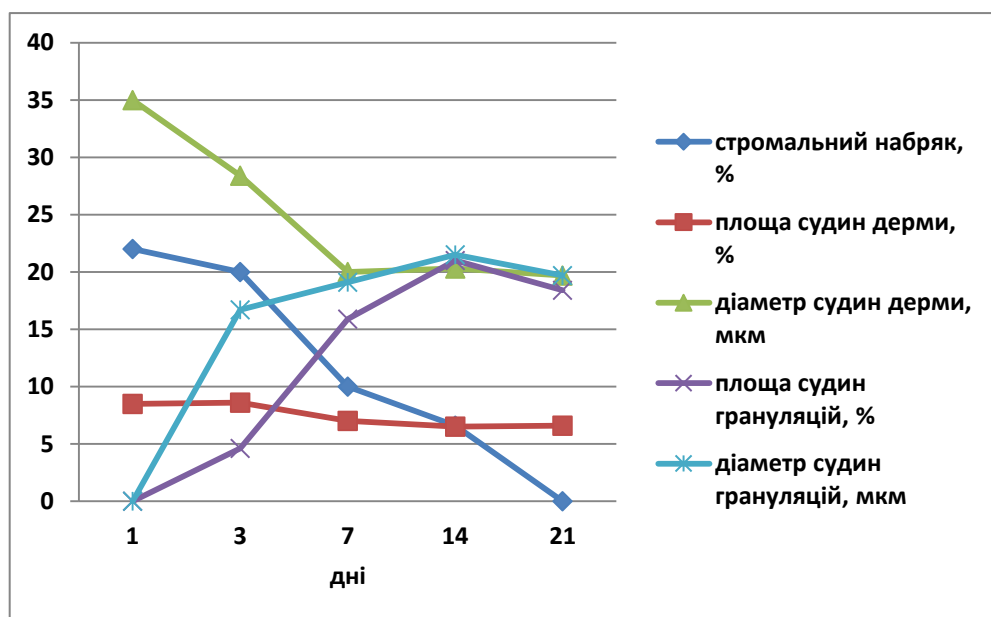


Рисунок 3.60 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин молодого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки

Ранній початок формування грануляцій за умов застосування хітозанової мембрани призводить до зростання площі судин грануляцій на 16,95% ( $p=0.18$ ) на 3-тю добу спостереження, на 16,91% ( $p=0.084$ ) – на 7 добу, на 16,21% ( $p=0.072$ ) – на 14 добу та на 29,51% ( $p=0.044$ ) – через 21 добу після травми. Зростання васкуляризації грануляцій може свідчити про їх прискорене формування. Середній діаметр судин грануляційної тканини через 3 дні спостереження становить  $16,78 \pm 0,28\%$ , що на 15,74% ( $p=0.063$ ) перевищує контроль (рис. 3.60). Різниця з контролем через 7 днів становить 11,04% ( $p=0.16$ ) та через 14 – 18,00% ( $p=0.12$ ). Таким чином, застосування хітозанових мембран майже не впливає на показники морфометрії гістологічних препаратів

Мікробіологічне дослідження змивів з поверхні рани тварин зрілого віку при застосуванні хітозанової мембрани свідчить про високі протективні властивості плівки щодо умовно-патогенної та патогенної флори (рис. 3.61). Так, на 3-тю добу спостереження відзначається колонізація рани лише нормальною мікрофлорою, а саме стафілококами та стрептококами у кількості, що не перевищує відповідно 80 КУО та 90 КУО. Через 3 доби спостерігається лише зростання кількості виявлених раніше мікроорганізмів до  $\leq 10^2$  КУО без появи інших представників умовно-патогенної мікрофлори.

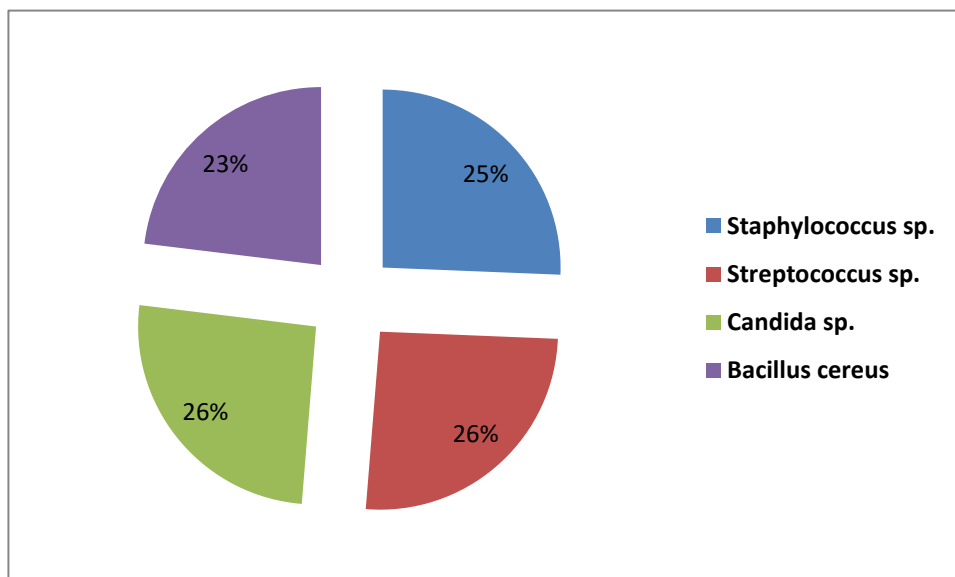


Рисунок 3.61 – Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щурів зрілого віку через 7 днів після нанесення кислотного опіку при використанні хітозанової плівки

Лише через 7 днів після травми спостерігається поява *Bacillus cereus* та грибів роду *Candida* у кількості  $\leq 10^2$  КУО. При цьому домінуючою мікрофлорою залишаються стафілококи та стрептококи. Через 14 днів після нанесення кислотного опіку відзначається зменшення кількості усіх представників флори, а саме стафілококів до рівня 80 КУО, стрептококів – до 90 КУО та грибів роду *Candida* – до 70 КУО. Представників *Bacillus Cereus* у посівах немає. Через 21 добу спостереження з рани виділяються лише стафілококи та стрептококи у кількості  $\leq 10^2$  КУО та 70 КУО відповідно.



### 3.6. Морфофункціональні зміни шкіри тварин старечого віку за умов хімічного опіку та використання хітозанової мембрани

Загальна площа дефекту шкіри у тварин старечого віку при використанні хітозанової плівки на першу добу спостереження становить  $1,74 \pm 0,12 \text{ см}^2$ . Через 3 дні спостереження площа рани дещо зменшується порівняно з попереднім терміном, проте різниця з контролем є недостовірною. Вже через 7 днів відбувається повільне зменшення загальної площі дефекту до  $1,24 \pm 0,07 \text{ см}^2$ , що на 11,64% ( $p=0.69$ ) менше, ніж у контрольній серії. Через 14 та 21 добу площа травмованої ділянки становить відповідно  $1,02 \pm 0,02 \text{ см}^2$  та  $0,54 \pm 0,06 \text{ см}^2$ , що лише на 12,40% ( $p=0.66$ ) та 10,17% ( $p=0,01$ ) менша від контрольних показників.

Відносна площа некрозу через 1 та 3 доби достовірно не відрізняється від контролю та становить відповідно  $59,44 \pm 0,19\%$  та  $49,59 \pm 0,35\%$ . Проте через 7 днів після травми в умовах застосування хітозанової плівки відбувається зменшення некротичних ділянок на 15,64% ( $p=0.026$ ), що свідчить про позитивний вплив хітозану на процеси очищення рани. Через 14 днів після нанесення кислотного опіку площа некрозу становить  $9,67 \pm 0,04\%$ , що на 26,13% ( $p=0.0038$ ) менше, ніж у контрольній серії тварин. Через 21 днів після опіку на поверхні травми не відзначається некротично змінених ділянок (рис. 3.62).

Грануляційна тканина на поверхні травми з'являється вже через 3 дні після опіку, площа її при цьому становить лише  $4,35 \pm 0,08\%$ , що на 17,88% ( $p=0.0016$ ) перевищує контрольні показники. Через 7 днів площа грануляцій зростає до  $26,23 \pm 0,32\%$  та починає зменшуватися через 14 днів після травми, що свідчить про активність процесів епітелізації. Через 21 добу спостереження відсоток грануляцій становить лише  $3,25 \pm 0,03\%$ , що майже втричі менше за контроль, та свідчить про позитивну динаміку процесів загоєння рани.

На відміну від контрольної серії перші ознаки епітелізації рани з'являються вже на 7 добу. При цьому площа епітелізованих ділянок становить  $3,45 \pm 0,07\%$ . Активність процесів загоєння рани призводить до стімкого зростання площі епітелію на 14-ту та 21-шу добу, з відносною площею  $31,44 \pm 0,25\%$  та  $75,12 \pm 0,47$ . На жаль, в

останній термін спостереження різниця з контролем є недостовірною, хоча свідчить про позитивну динаміку процесів регенерації.

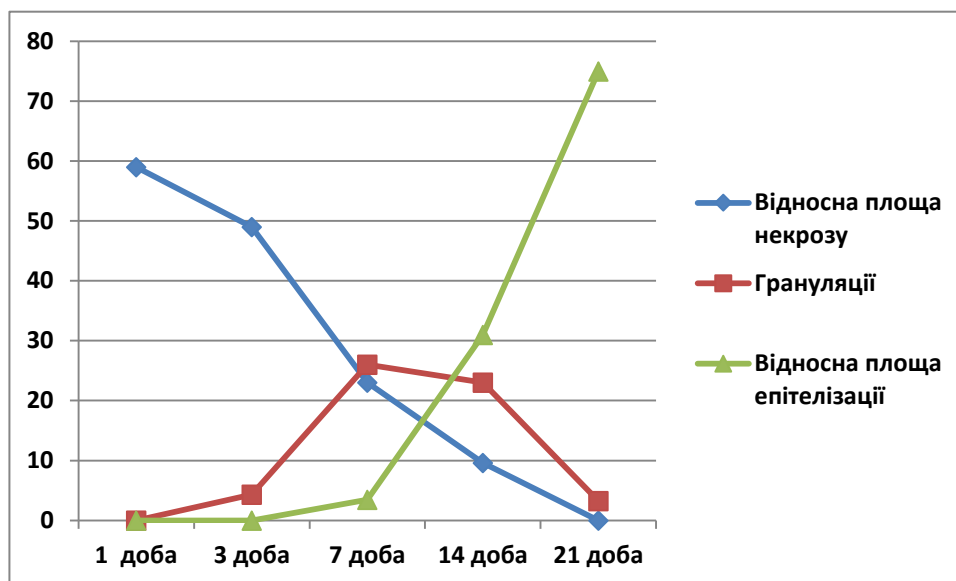


Рисунок 3.62 – Динаміка планіметричних показників поверхні рани щурів старечого віку експериментальної серії

Аналіз даних планіметрії свідчить про незначне зменшення термінів початку та повної епітелізації рани у тварин старечого віку при застосуванні хітозану відповідно до  $13,50 \pm 0,15$  ( $p=0.0031$ ) та  $21,80 \pm 0,20$  ( $p=0.4475$ ) днів при швидкості загоєння рани до  $0,69 \pm 0,05$  мм/добу ( $p=0.064$ ).

На жаль, цитологічне дослідження відбитків із поверхні рани у тварин старечого віку свідчить про незначні стимулювальні властивості хітозану на динаміку клітинного складу у щурів даної вікової групи. Так, через 3 доби після травми не відзначається достовірних змін кількості лейкоцитів у полі зору. Про невиразну запальну реакцію у відповідь на кислотну травму свідчить кількість  $62,12 \pm 0,47$  клітин в полі зору. Кількість нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів зростає недостовірно та становить відповідно  $69,50 \pm 0,17\%$ ,  $5,5 \pm 0,04\%$  та  $3,9 \pm 0,15\%$  (рис. 3.63).

На 3-тю добу після завдання травми при застосуванні хітозаної мембрани відбувається незначне, проте достовірне зростання кількості лімфоцитів до  $86,46 \pm 1,24$  у полі зору. При цьому на  $13,40\%$  ( $p=0.015$ ) зростає відсоток нейтрофілів, що забезпечує адекватну запальну реакцію та міграцію в зону ушкодження інших ефektorних клітин. Так, кількість лімфоцитів та моноцитів становить у цей термін

5,8±0,02% та 3,7±0,03%. Морфологічно ці клітини характеризуються вираженими ознаками внутрішньоклітинної активності, що є ще одним свідченням розгортання запальної реакції. Адекватність запалення при травмі є гарантією нормального перебігу процесів регенерації і регуляція активності прозапальних клітин є одним з механізмів стимулювання репаративних процесів. У цитологічних відбитках з'являються макрофаги та полібласти, відсоток яких зростає порівняно з контролем на 208% (p=0.018) та 43,47% (p=0.001). При цьому спостерігається значна кількість макрофагів із явищами незавершеного фагоцитозу, що є свідченням зменшення активності даних клітин із віком (рис. 3.64).

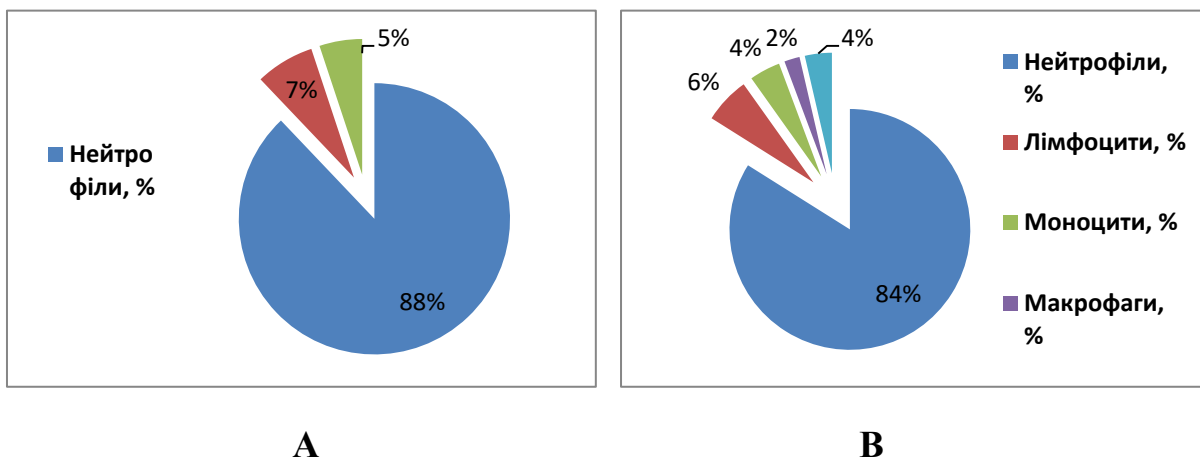


Рисунок 3.63 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 1 (А) та 3 (В) доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозаної мембрани

Через 7 днів після травми відзначається зменшення як загальної кількості лейкоцитів до 64,6±0,26 у полі зору, так і вмісту нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів відповідно до 70,3±0,13%, 3,9±0,04% та 2,1±0,09%. Така картина свідчить про зменшення запальної реакції в рані та початок стадії грануляції. Натомість кількість макрофагів та полібластів зростає порівняно з попереднім терміном спостереження у 5 та 3 рази, а порівняно з контролем відповідно на 20,68% (p=0.044) та 17,94% (p=0.018), проте такий ріст дещо менший, ніж у тварин молодого та зрілого віку. Стимуляція загоєння шкіри за допомогою хітозану призводить до зростання відсотка фібробластів та ендотеліоцитів до 10,5±0,21% та 9,2±0,02%, що на 46,80% (p=0.16) та 61,11% (p=0.0013). Проте морфологічно клітини характеризуються незначною

проліферативною та секреторною активністю (рис. 3.65). Це підтверджується незначним ростом площі грануляцій у відповідний термін спостереження. У препаратах із периферичних ділянок спостерігаються поодинокі епітеліоцити з відсутністю ознак проліферації.

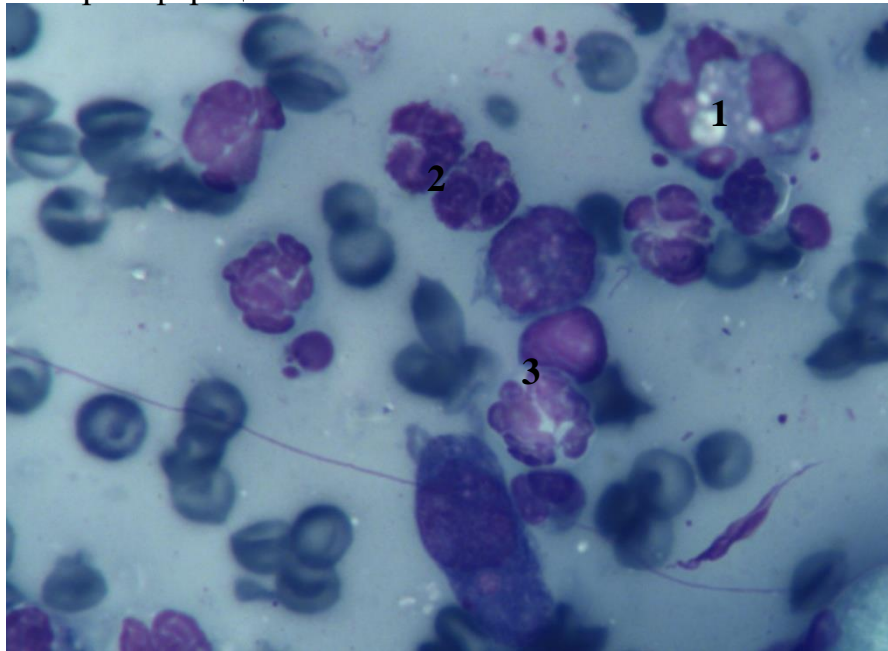


Рисунок 3.64 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 3 доби після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл,
3. Лімфоцит.

Через 14 днів після травми кількість лейкоцитів значно зменшується порівняно з контролем, проте все ще становить  $39,5 \pm 0,17$  у полі зору, що свідчить про затяжний запальний процес у рані. Кількість нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів все ще значна та становить  $41,2 \pm 0,09\%$ ,  $3,3 \pm 0,05\%$  та  $1,0 \pm 0,05\%$  від загальної кількості клітин. Клітини запалення характеризуються незначними проявами активності, що також свідчить про хронізацію процесу. Вміст макрофагів зростає як порівняно з попереднім терміном, так і з контролем та становить  $17,6 \pm 0,15\%$ . Проте відзначається поява клітин з ознаками деструкції та з незавершеним фагоцитозом. Кількість фібробластів значно зростає порівняно з попереднім терміном та становить  $15,5 \pm 0,13\%$ , проте ознаки синтетичної активності виражені недостатньо порівняно з тваринами молодого та зрілого віку. У відбитках з усіх ділянок травми відзначається

зростання кількості епітеліоцитів, які місцями формують групи (рис. 3.66). Навіть на периферії відсутні пласти епітеліоцитів, що свідчить про низький рівень епітелізації рани.

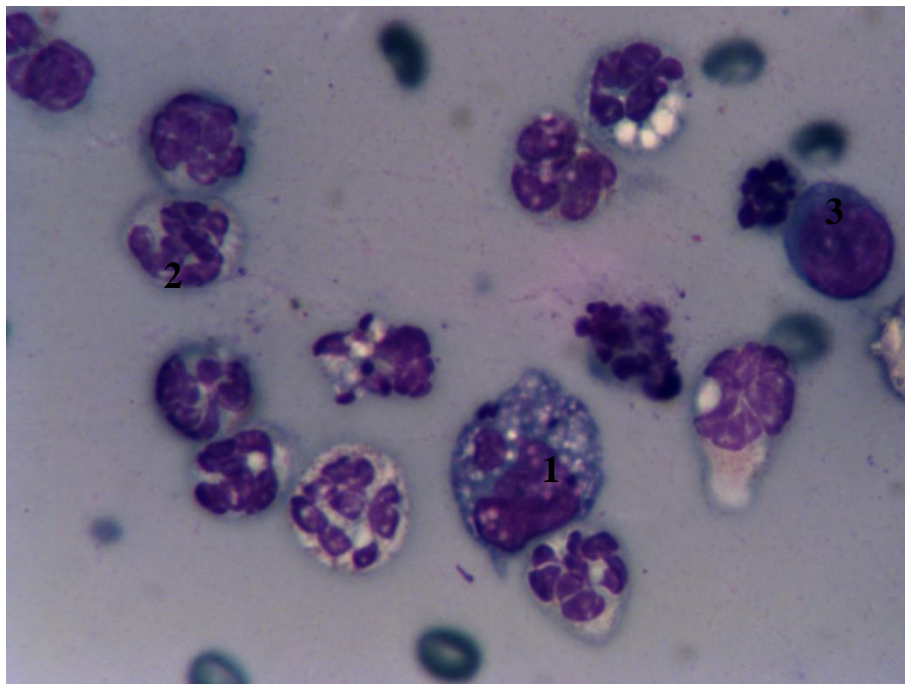


Рисунок 3.65 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 7 днів після нанесення хімічного опіку та застосування хітозанової мембрани. Забарвлення за Романовським–Гімзою. Зб. Х600:

1. Макрофаг,
2. Нейтрофіл,
3. Лімфоцит.

На 21-шу добу після травми у цитологічних мазках трапляється значна кількість лейкоцитів – до  $16,1 \pm 0,24$  у полі зору, що свідчить про низьку швидкість зменшення запалення в рані. Відсоток нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів менший за контроль на 26,02% ( $p=0.001$ ), 23,08% ( $p=0.025$ ) та 15,00% ( $p=0.21$ ), проте все ще становить відповідно  $18,2 \pm 0,28\%$ ,  $2,0 \pm 0,05\%$  та  $0,85 \pm 0,02\%$ . Кількість макрофагів зменшується порівняно як з попереднім терміном спостереження, так і з контролем (рис. 3.67). При цьому рівень полібластів становить  $17,8 \pm 0,07\%$ , що на 25,36% ( $p=0.013$ ) більше, ніж у контрольній серії тварин. Кількість фібробластів та ендотеліоцитів становить відповідно  $24,8 \pm 0,09\%$  та  $4,9 \pm 0,06\%$ , що лише незначно більше за контрольні показники та не може призвести до акселерації процесів утворення сполучної речовини міжклітинного матриксу. Незважаючи на це, кількість епітеліоцитів у

мазках зростає, багато з них утворюють пласти, що свідчить про активність закриття опікової рани.

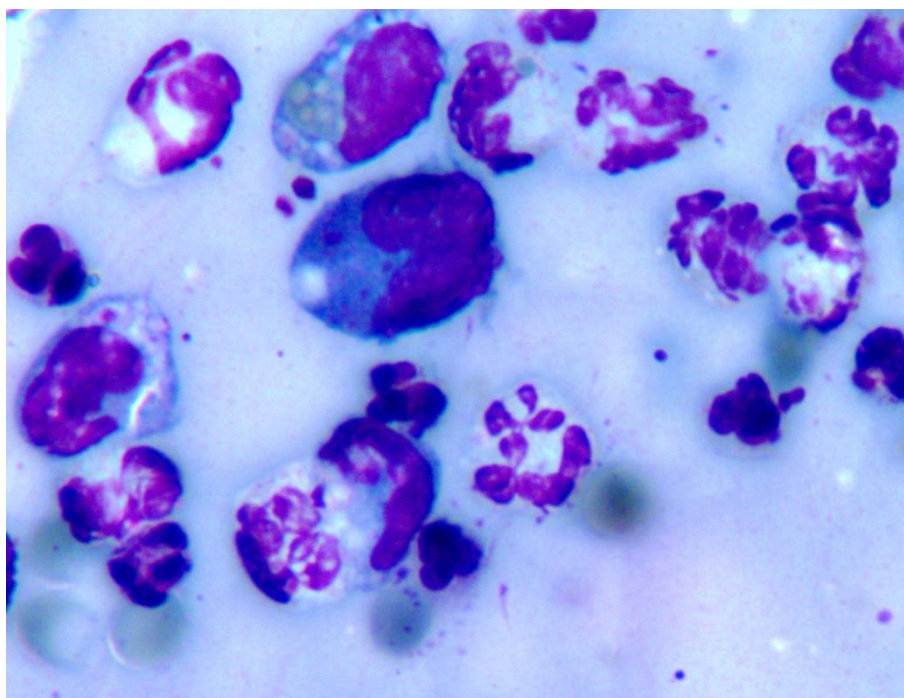


Рисунок 3.66 – Мазок з поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 14 днів після нанесення хімічного опіку та застосування хітозаної мембрани. Зabarвлення за Романовським–Гімзою. Зб.. X300

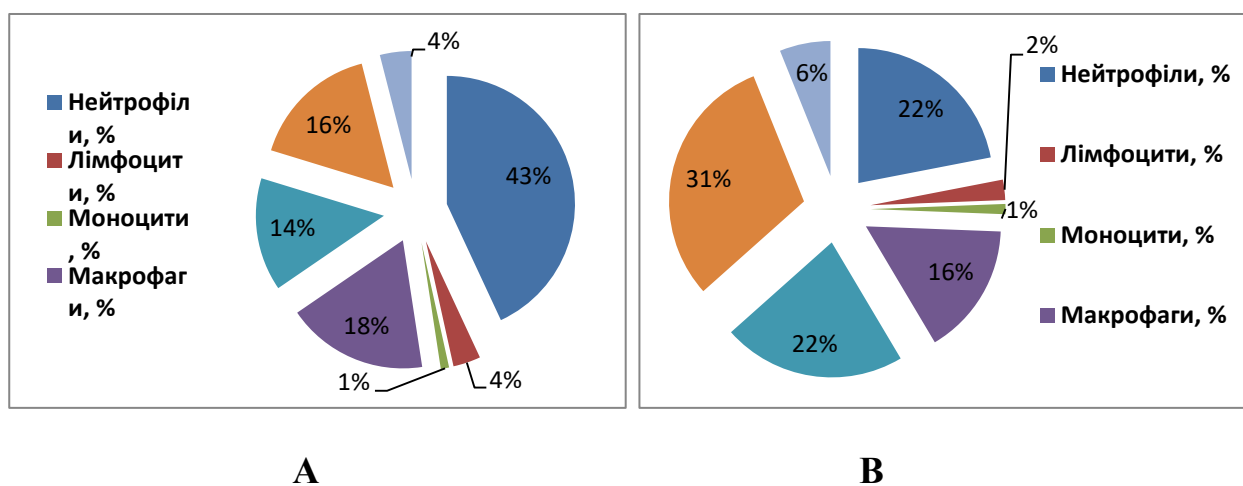


Рисунок 3.67 – Відсотковий вміст клітин на поверхні рани шкіри тварин старечого віку через 14 (А) та 21 (В) добу після нанесення хімічного опіку та застосування хітозаної мембрани

Гістологічне дослідження біопатів рани тварин старечого віку при використанні хітозаної мембрани показало формування вираженого

периваскулярного набряку в глибоких шарах шкіри. Біля поверхні не відзначається вираженої судинної реакції, що призводить до незначного набряку та ексудації на поверхні дефекту. Відбувається формування вираженого некротичного струпа. Запальна реакція у вигляді нейтрофільно-лімфоцитарної інфільтрації виражена недостатньо, проте дещо більша, ніж у тварин контрольної серії. Судинна реакція характеризується розширенням та повнокров'ям судин середнього та малого калібрів а також стазами еритроцитів у капілярах мікроциркуляторного русла.

Через 3 доби після травми відзначається зростання вираженості набряку всіх шарів шкіри, проте біля поверхні він дещо менший, ніж у тварин контрольної серії. Останнє може бути пов'язане з високими сорбуючими властивостями хітозану. Некротичний струп покриває майже всю поверхню рани, під ним відсутні макрофаги, на відміну від тварин молодого та зрілого віку. Нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація зростає, особливо біля поверхні дефекту і в його периферичних ділянках (рис. 3.68). На поверхні рани відсутні грануляції, що є несприятливим фактором.

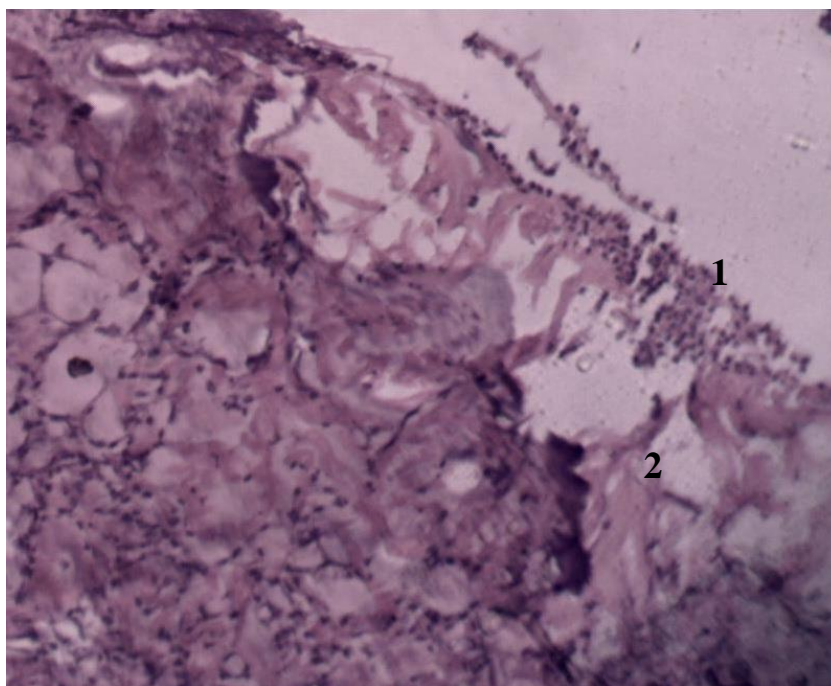


Рисунок 3.68 – Дефект шкіри щура старечого віку на 3 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. X150:

1. Деструкція поверхні шкіри,
2. набряк.

Біля поверхні дефекту шкіри тварин старечого віку через 7 днів спостереження з'являються макрофаги, що призводить до зменшення площі некротичного струпа. Під струпом та хітозановою плівкою в місцях відсутності некротичної кірки відбувається формування грануляцій, що характеризуються низьким вмістом фібробластів. При цьому площі грануляцій дещо більші за контрольну серію тварин. Периваскулярний та стромальний набряк повільно зменшуються, особливо біля поверхні дефекту. Діаметр судин та їх повнокрів'я також дещо менші, ніж у попередній термін спостереження. Нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація поступово змінюється на макрофагально-гістіоцитарну, проте в глибоких шарах шкіри ще достатньо висока кількість нейтрофілів, що свідчить про затяжну запальну реакцію, навіть при застосуванні хітозанової мембрани (рис. 3.69). Висока запальна активність у рані гальмує розвиток грануляційної та епітеліальної тканини, що уповільнює процеси регенерації.

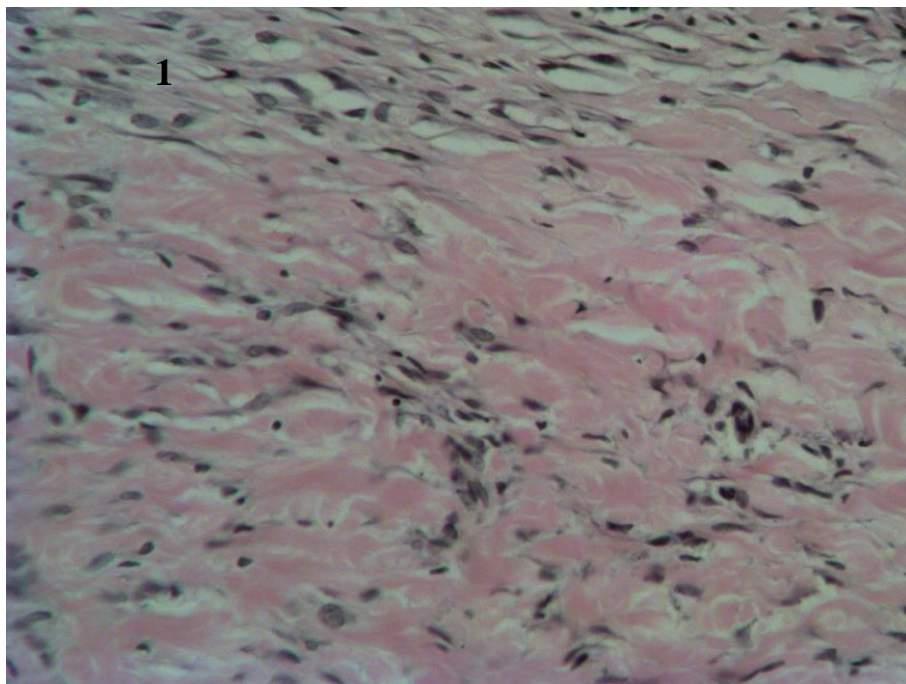


Рисунок 3.69 – Дефект шкіри щура старечого віку на 7 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Забарвлення гематоксилін–еозин. Зб. X150:

1. – грануляційна тканина.



Через 14 днів після хімічного опіку на фоні застосування хітозанової мембрани відзначається прогресуюче зменшення некротичних ділянок за рахунок процесів фагоцитозу. Під поверхнею мембрани формується грануляційна тканина, яка вкриває всі периферійні ділянки та поширюється до центру. Крайові зони рани починають епітелізуватися під хітозановою плівкою. Значно зменшується лейкоцитарна інфільтрація та зростає кількість макрофагів біля поверхні травми. набряк глибоких ділянок значно зменшується, у поверхневих – наявний в окремих препаратах, що свідчить про нормалізацію кровотоку в шкірі. Судини відрізняються незначним повнокров'ям, дещо розширені в глибоких шарах шкіри.

На 21-шу добу після травми під хітозановою мембраною відзначається епітелізація майже всієї поверхні рани. Лише в центральних ділянках дефект місцями вкритий грануляціями. Під епітелієм формується сполучна тканина, яка місцями набуває будови рубцевої, проте її кількість значно менша, ніж у контрольній серії. Запальна реакція зникає, проте місцями помітні ділянки нейтрофільної інфільтрації, особливо в глибоких шарах шкіри (рис. 3.70).

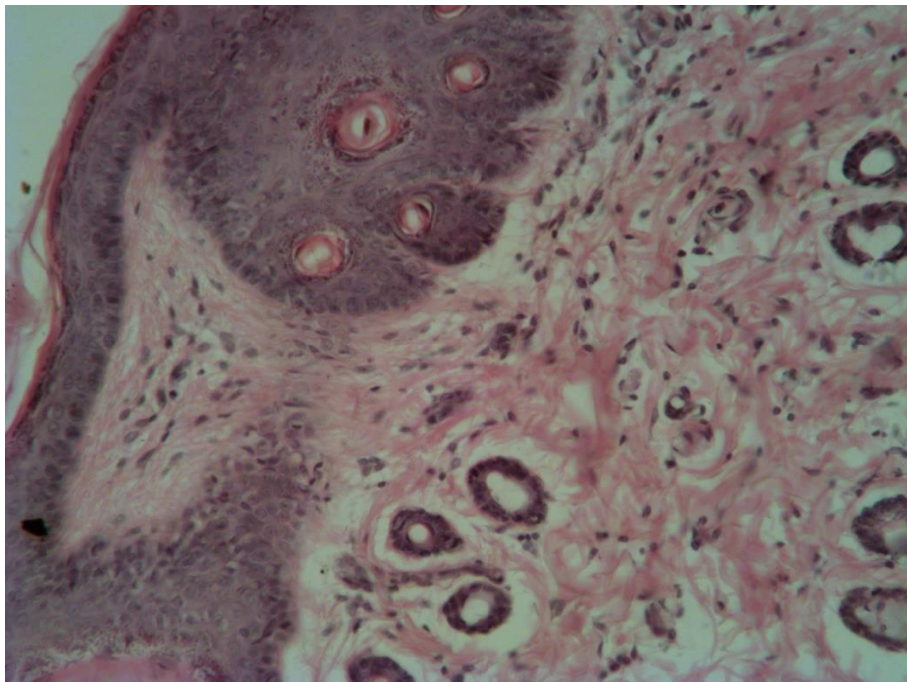


Рисунок 3.70 – Ділянка шкіри щура старечого віку на 21 добу після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки. Зabarвлення гематоксилін–еозин. Зб. Х400

Морфометрія гістологічних препаратів шкіри тварин старечого віку при застосуванні хітозану не показала зменшення стромального набряку через 1 добу після травми, відсоток якого становить  $26,5 \pm 0,13\%$ . При цьому вже через 3 доби відбувається незначне зменшення набряку порівняно з контролем, проте порівняно з попереднім терміном він зростає до  $28,2 \pm 0,38\%$ . Лише на 7-му добу спостерігається зменшення відносної площі стромального набряку до  $20,1 \pm 0,17\%$ , що на  $20,87\%$  ( $p=0.0083$ ) менше за контроль. Через 14 та 21 день після травми різниця з контролем становить  $13,58\%$  ( $p=0.18$ ) та  $18,60\%$  ( $p=0.17$ ), що є значно меншою, ніж у тварин молодого та зрілого віку.

Відносна площа судин дерми зменшується з  $9,35 \pm 0,06\%$  у перший термін спостереження до  $7,12 \pm 0,88\%$  – через 21 день після травми, що характеризує зниження повнокров'я судин (рис. 3.71). Динаміка зменшення діаметра судин дерми також свідчить про недостатню коригуючу дію хітозану на процеси регенерації шкіри, порівняно з тваринами молодого та зрілого віку. Так, середній діаметр судин зменшується в експерименті з  $38,9 \pm 0,16$  мкм до  $24,13 \pm 0,08$  мкм.

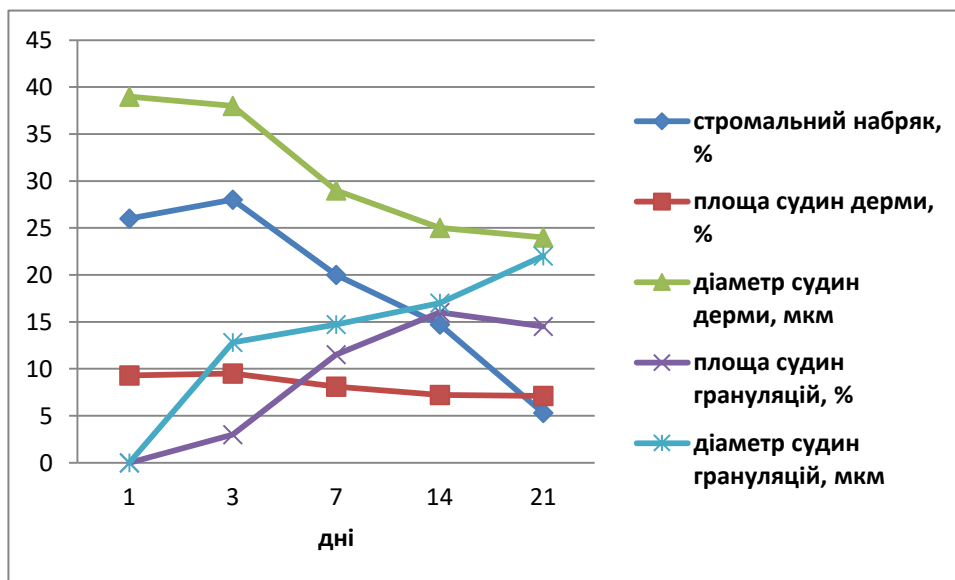


Рисунок 3.71 – Динаміка морфометричних показників гістологічних препаратів тварин молодого віку в різні терміни після нанесення кислотного опіку та використання хітозанової плівки

Повільне формування грануляцій в експериментальній серії тварин не супроводжується значним зростанням відносної площі судин грануляційної тканини порівняно з контролем. Лише на 7-му та 14-ту добу після травми площа судин грануляцій перевищує контроль на 17,34% ( $p=0.096$ ) та 18,14% ( $p=0.061$ ). Цей показник на 21-шу добу спостереження становить  $14,46\pm 0,23\%$ , що недостовірно відрізняється від контролю. Середній діаметр судин грануляційної тканини зростає з  $12,8\pm 0,09$  мкм на 3-тю добу спостереження до  $22,07\pm 0,19$  мкм – через 21 день. При цьому в усі терміни спостереження різниця з контролем є недостовірною.

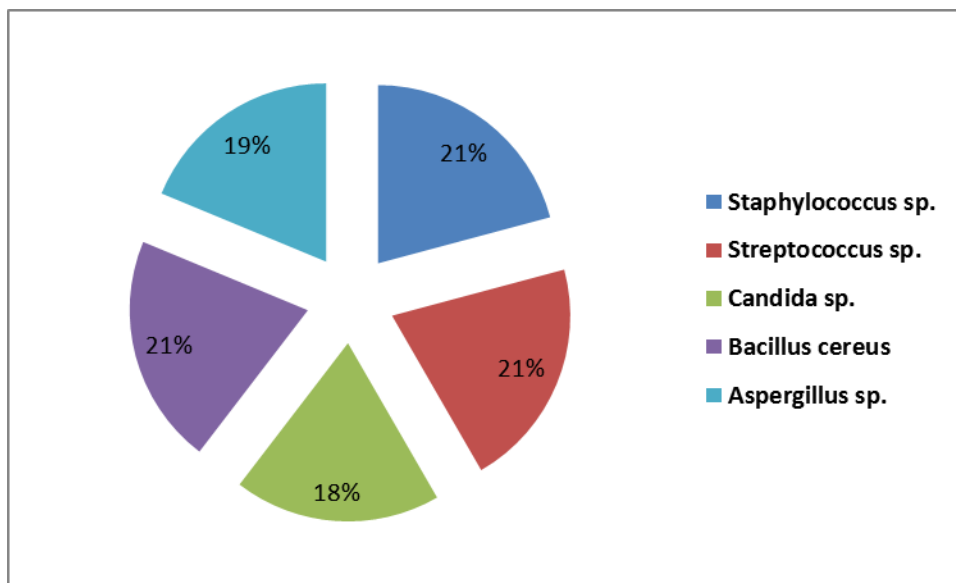


Рисунок 3.72 - Відсоткове співвідношення мікроорганізмів з поверхні рани щурів старечого віку через 7 діб після нанесення кислотного опіку при використанні хітозаної плівки

У тварин старечого віку при застосуванні хітозану відзначається незначна мікробна контамінація поверхні рани через 1 добу після травми. В змивах з поверхні рани виділяються стафілококи, стрептококи та *Bacillus cereus* у кількості 60 КУО, 90 КУО та 70 КУО відповідно. Через 3 дні після травми відзначається збільшення всіх виявлених мікроорганізмів до  $\leq 10^2$  КУО та поява грибів роду *Aspergillus* у кількості 70 КУО, які не спостерігалися в рані тварин молодого та старечого віку. Ймовірно, власні захисні механізми та незначна вираженість запальної реакції є сприятливими факторами для грибкового росту. На 14-ту добу відбувається поява грибів роду

*Candida* у кількості 90 КУО, проте основними бактеріями на поверхні рани є умовно патогенні стафілококи та стрептококи, а також *Bacillus cereus* (рис. 3.72). Через 14 днів спостерігається зменшення кількості всіх виділених мікроорганізмів, а через 21 добу в змивах з поверхні рани відсутні гриби, що свідчить про активність хітозану стосовно як до бактерій, так і до грибів. На відміну від контрольної серії в рані не спостерігається наявність *E. Colli*.

## РОЗДІЛ 4

### ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Загоєння дефекту шкіри будь-якої етіології проходить кілька стадій, що завершуються або повним відновленням втраченого покриву, або формуванням рубцевої тканини, яка вкриває місце травми [5]. Стадійність перебігу регенерації шкіри залежить від виду травми, супутніх пошкоджень, наявних хвороб, таких як цукровий діабет, ожиріння, імунодефіцитні стани, зокрема й СНІД [9, 73]. Вік пацієнта на момент травми також може впливати на процеси загоєння дефекту через особливості кровопостачання шкіри, наявності резервних клітин та їх функціональної активності [18, 65]. Тому при веденні хворих з дефектами шкіри необхідно враховувати зазначені фактори для прискорення загоєння рани без утворення рубцевої тканини.

Одним з основних методів лікування поверхневих ран є застосування місцевих засобів. Традиційно з початку 20-го століття, застосовуються різновиди марлевих пов'язок, що виконують захисну та сорбуючу функції, проте не сприяють процесу загоєння дефекту. Тому із середини 20-го століття проводять пошуки нових матеріалів для пластики дефектів шкіри. Ідеальна пов'язка повинна захищати поверхню рани, бути проникною для кисню та інших газів, мати задовільні сорбуючі властивості та не спричиняти побічну дію. На сьогодні в арсеналі лікарів наявний цілий спектр матеріалів – від ксеношкіри до матеріалів, створених за технологією тканинної інженерії [2, 13, 55]. Проте відсутня універсальна пов'язка, що задовольняє лікаря та пацієнта за ефективністю та фармако-економічними показниками. Тому розробка нових засобів для місцевого лікування ушкоджень шкіри є актуальною медико-біологічною проблемою.

Останніми роками зросла кількість публікацій щодо використання хітозану для створення біологічно активних матеріалів [6, 66, 81, 90]. Хітозан є деацетильованим похідним хітину та виявляє унікальні біологічні властивості, як-от біосумісність, біодеградацію, відсутність токсичності та антигенних властивостей, антибактеріальну та антифунгальну дію. У літературі є дані щодо використання матеріалів з хітозану для лікування опіків термічного характеру як у чистому вигляді,

так і у поєднанні зі сріблом, мірамістином, йодидами тощо [99, 126, 129]. Зазначені матеріали продемонстрували здатність до стимуляції регенераторних процесів, зменшення бактеріального навантаження та профілактики утворення рубцевої тканини. Проте в літературі відсутні дані щодо морфофункціональних особливостей регенерації шкіри після хімічної травми при застосуванні похідних хітозану у віковому аспекті.

Ми провели експеримент на 180 лабораторних щурах самцях трьох вікових груп – молодого (3 місяці), зрілого (9 місяців) та старечого (22 місяці) віку, які були поділені на контрольну та експериментальну серії. Усім тваринам моделювали хімічний опік IIIA ступеня в міжлопатковій ділянці. Тваринам контрольної серії проводили стандартне лікування хімічних опіків із застосуванням стерильних марлевих пов'язок, які змінювали щоденно. Експериментальній серії тварин для лікування пошкоджень шкіри використовували гідрогель хітозану, який накладали на пошкоджені ділянки із заміною плівки 1 раз на день.

Тварин обох серій виводили з експерименту шляхом передозування наркозу (70 мг/кг) через 1, 3, 7, 14 та 21 день після травми та проводили дослідження процесів регенерації шкіри з використанням методів планіметрії, цитології, гістоморфометрії та бактеріологічного вивчення поверхні рани.

Через 1 добу після травми на поверхні шкіри утворюється некротична кірка, що виконує захисну функцію та попереджає поширення хімічного опіку на здорові тканини. Незважаючи на уніфіковану методику завдання травми, площа некрозу у тварин різного віку відрізняється, що, можливо, є наслідком більшої здатності шкіри тварин молодого віку до контракції через високі еластичні властивості, з одного боку, та значну коагуляцію білкових молекул у тварин старечого віку – з іншого. Так, відносна площа некрозу у тварин старечого віку перевищує зазначений показник у молодих щурів на 10,05% ( $p \leq 0,05$ ), різниця з тваринами зрілого віку становить 6,91% ( $p \leq 0,05$ ). Необхідно зазначити, що площа некротично змінених тканин у тварин молодого та зрілого віку відрізняється недостовірно.

Через 3 доби після травми площа рани у тварин молодого та зрілого віку зменшується відповідно до  $31,22 \pm 0,12\%$  та  $43,56 \pm 0,17\%$  відповідно. При цьому у тварин старечого віку цей показник змінюється недостовірно. Таким чином, вже через

3 доби після травми відзначається очищення рани від некротичних мас у тварин молодого та зрілого віку та затримка цих процесів у щурів старечого віку, що, можливо, є наслідком низької активності макрофагів.

Через 7 та 14 днів після травми зберігається тенденція, що була виявлена у попередні терміни спостереження і на 14-ту добу площа некрозу у тварин старечого віку перевищує цей показник у щурів молодого та зрілого віку на 59,05% ( $p=0.034$ ) та 114,29% ( $p=0.0001$ ) відповідно. На 21-шу добу спостереження у всіх вікових групах відбувається повна епітелізація рани з відсутністю вогнищ некротично змінених тканин.

Загальна площа дефекту з 7-ї доби спостереження зменшується у всі вікові періоди, що пов'язане з контракцією рани та її поступовою епітелізацією. При цьому у тварин молодого та зрілого віку процес зменшення площі дефекту виявляє більш швидку динаміку порівняно з тваринами старечого віку. За рахунок контракції рани та її епітелізації на 21-шу добу спостереження площа рани епітелізованого дефекту становить відповідно  $0,54 \pm 0,01 \text{ см}^2$ ,  $0,68 \pm 0,05 \text{ см}^2$  та  $0,75 \pm 0,03 \text{ см}^2$ . Використання хітозаної мембрани призводить до зменшення площі дефекту у всіх вікових групах, починаючи з 14-ї доби спостереження, що, можливо, є наслідком утворення повноцінної сполучної тканини в умовах застосування штучного покриття. Дослідження деяких авторів свідчать про формування повноцінного колагену та покращення орієнтації його волокон при застосуванні хітозану [124, 171]. Через 21 добу спостереження застосування хітозану призводить до зменшення площі дефекту у тварин молодого віку на 26,23% ( $p=0.001$ ), зрілого віку – на 21,13% ( $p=0.02$ ) та у щурів старечого віку – на 11,32% ( $p=0,01$ ) (рис. 4.1).

Відносна площа некротизованих тканин при використанні хітозаної мембрани починає зменшуватись у тварин молодого та зрілого віку через 3 доби після травми порівняно з контрольною групою щурів. Прискорення динаміки очищення рани від некротизованих тканин може бути наслідком активізації макрофагів олігомерами хітозану. Є докази стимуляції міграції клітин макрофагального ряду та зростання їх фагоцитарної активності внаслідок взаємодії з хітозаном [52, 119]. Відсутність динаміки у тварин старечого віку може бути свідченням зменшення чутливості макрофагів до зовнішніх чинників, а також порушенням місцевого

кровообігу, що погіршує процеси міграції клітин [148]. Через 3 доби після травми відносна площа некрозу у тварин молодого віку при застосуванні хітозаної мембрани менша порівняно з контролем на 15,65% ( $p=0.0001$ ), у щурів зрілого віку – на 20,44% ( $p=0.001$ ).

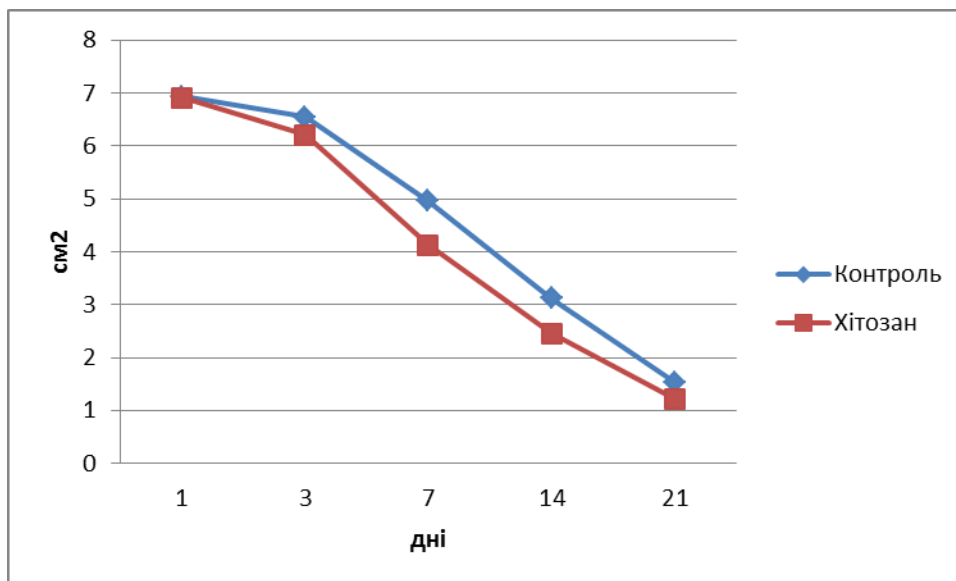


Рисунок 4.1 – Динаміка зміни площі дефекту у тварин молодого віку при застосуванні стандартного лікування та використанні хітозаної мембрани

У подальшому відзначається зменшення відносної площі некрозу у всіх вікових групах порівняно з контролем, проте спостерігається вікова залежність (рис. 4.2). Так, у тварин молодого віку через 14 днів після травми площа некрозу менша за контроль на 45,44% ( $p=0.001$ ), у зрілих – на 32,81% ( $p=0.017$ ) і у щурів старечого віку – на 24,13% ( $p=0.0038$ ).

Грануляційна тканина з'являється на поверхні рани у її крайових ділянках через 3 доби після травми. Поява цієї тканини є наслідком міграції фібробластів з неущкоджених ділянок шкіри і синтезу ними сполучнотканинного каркасу у який врастають чисельні капіляри [188]. Порівнюючи динаміку зростання грануляцій на поверхні рани, ми підтвердили дані багатьох авторів про уповільнення її формування в особин старечого віку, що пов'язане зі зменшенням активності клітин фібробластичного ряду та пригніченням процесів ангіогенезу з віком [25, 197]. Площа грануляцій через 3 доби у тварин старечого віку менша, ніж у щурів молодого віку майже у чотири рази.



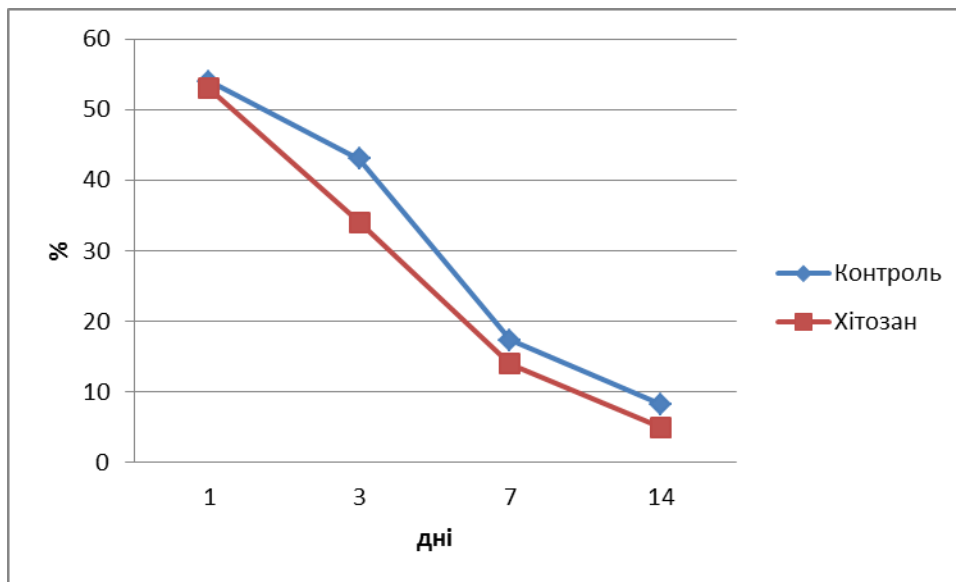


Рисунок 4.2 – Динаміка зміни відносної площі некрозу у тварин зрілого віку при застосуванні стандартного лікування та використанні хітозаної мембрани.

Кількість грануляцій зростає до 7 доби у тварин молодого та зрілого віку і значно зменшується на кінець терміну спостереження. При цьому у тварин старечого віку зменшення площі грануляційної тканини відзначається лише через 21 добу спостереження.

Зменшення площі грануляцій є наслідком епітелізації поверхні рани, яка розпочинається через 7 днів у тварин молодого та зрілого віку і через 2 тижні – у щурів старечого віку. Поява епітеліоцитів є наслідком їх міграції та проліферації з неушкоджених ділянок шкіри та виявляє залежність від інтенсивності кровопостачання. Останній чинник може бути причиною уповільнення утворення епітеліального покриву у тварин старечого віку.

Застосування хітозаної мембрани для закриття дефекту призводить до зростання кількості грануляцій в усіх вікових групах тварин, проте інтенсивність збільшення площі є різною. Так, через 3 доби після травми площа грануляційної тканини зростає у тварин молодого віку порівняно з контролем на 52,14% ( $p=0.001$ ), зрілого віку – на 56,08% ( $p=0.001$ ) і старечого – лише на 17,89% ( $p=0.016$ ). При цьому у тварин останньої вікової групи через 7 днів після травми не відзначається достовірного зростання площі грануляцій. Активний ріст грануляційної тканини та процесів епітелізації призводить до відсутності грануляцій в останній термін спостереження при використанні хітозаної мембрани у тварин молодого та зрілого

віку. У тварин старечого віку площа грануляційної тканини через 21 добу після травми дорівнює  $3,25 \pm 0,03$  %, що майже утричі менше за аналогічний показник у контрольній групі (рис. 4.3).

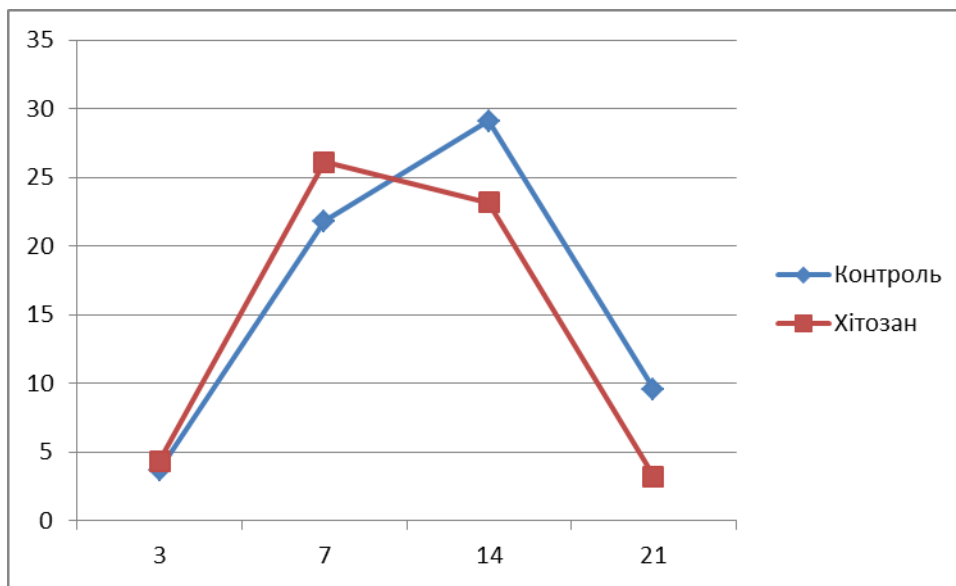


Рисунок 4.3 – Динаміка зміни відносної площі грануляційної тканини у тварин старечого віку при застосуванні стандартного лікування та використанні хітозаної мембрани

Використання хітозаної мембрани призводить до прискорення епітелізації поверхні рани у тварин усіх вікових груп, а у щурів старечого віку зміщує термін появи епітелізованих ділянок на 7-му добу спостереження. На 21-шу добу після травми відбувається майже повна епітелізація дефекту без утворення рубцевої тканини у тварин молодого та зрілого віку. У щурів старечого віку відбувається збільшення відсотка епітелізованих ділянок в усі терміни спостереження, проте на 21-шу добу він становить  $75,12 \pm 0,47\%$ , але цей показник на  $9,76\%$  ( $p=0.043$ ) перевищує контроль (рис. 4.4).

Прискорений розвиток грануляцій та збільшення площі епітелізованих ділянок при використанні хітозаної мембрани виявляє декілька механізмів. По-перше, олігомери хітозану, які вивільняються при його деградації, мають хемотаксичні властивості по відношенню до фібробластів, які синтезують міжклітинний матрикс [53, 76]. По-друге, хітозан може виступати в якості матеріалу для формування сітки глікозаміногліканів як структурного шару сполучної речовини [103]. Також є докази підвищення проліферативної активності фібробластів та епітеліоцитів у культурі при

додаванні продуктів деградації хітозану [12, 104]. Олігомери хітозану, за даними деяких авторів, можуть також активізувати процеси ангиогенезу [108].

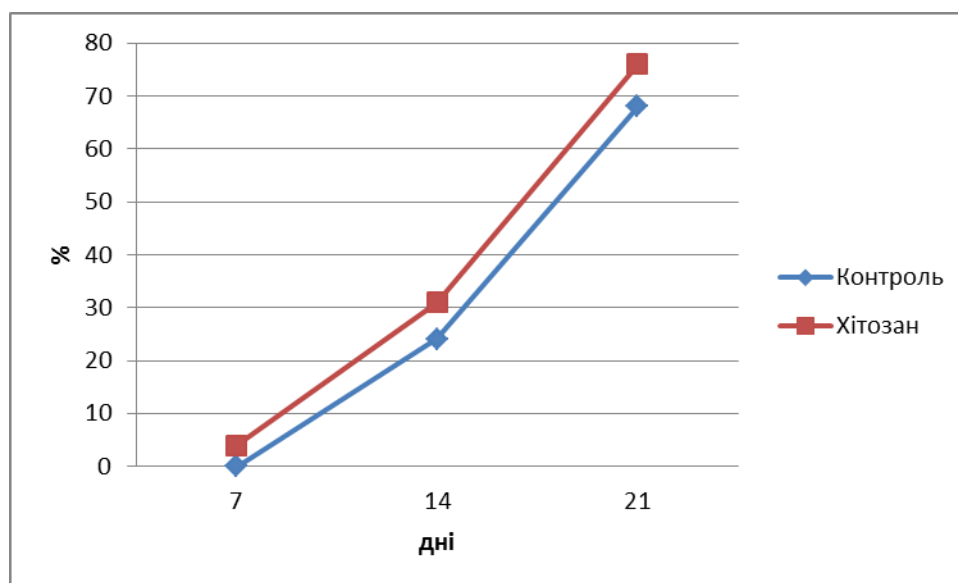


Рисунок 4.4 – Динаміка зміни відносної площі епітелізації у тварин старечого віку при застосуванні стандартного лікування та використанні хітозаної мембрани

Загалом використання хітозаної мембрани призводить до більш раннього початку епітелізації у тварин всіх вікових груп і зменшення терміну повної епітелізації поверхні рани і швидкості її заживлення у щурів молодого та зрілого віку.

Аналізуючи показники цитологічного дослідження мазків із поверхні рани у тварин різного віку, привертає увагу зменшення кількості лейкоцитів на 1-шу та 3-тю доби у тварин старечого віку. Так, на першу добу після травми кількість клітин становить  $98 \pm 0,67$  у полі зору у щурів молодого віку, зменшуючись до  $86,98 \pm 0,39$  – у зрілих та до  $65,03 \pm 0,19$  – у особин старечого віку. Цей показник свідчить про зменшення запальних процесів у рані. Проте запальна реакція у перші дні після нанесення хімічного опіку виконує захисну реакцію та спрямована на захист здорових тканин від ушкодження [7, 107]. Разом із цим через 7 та 14 днів після травми відзначається значне зменшення кількості лейкоцитів у тварин молодого та зрілого віку, що свідчить про зменшення запальної реакції. На 21-шу добу після травми кількість лейкоцитів у полі зору у тварин молодого віку становить  $11,8 \pm 0,03$ , у зрілих –  $10,2 \pm 0,04$ , що є нормальним показником для шкіри щурів. У тварин старечого віку динаміка зменшення кількості лейкоцитів є повільною, що свідчить про пролонгацію запального процесу. Відомо, що в умовах хронізації запалення порушуються процеси

синтезу сполучної речовини, що може призводити до незавершеної регенерації та формування рубцевої тканини [115]. Навіть через 21 добу після травми кількість лейкоцитів у тварин старечого віку в рані перевищує показник попередніх вікових груп майже удвічі (рис. 4.5). Як видно з графіка, крива кількості лейкоцитів у тварин старечого віку є більш пологою та в терміни між 3-ю та 7-ю добами спостереження майже не змінюється на відміну від тварин молодого та зрілого віку, у яких відбувається різке зменшення кількості клітин в цей проміжок часу.

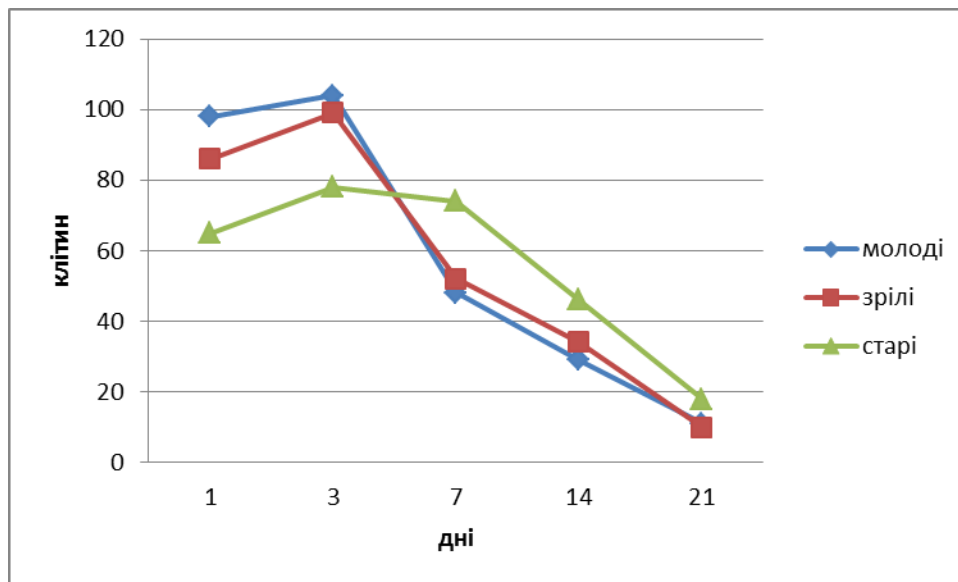


Рисунок 4.5 – Динаміка зміни кількості лейкоцитів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні стандартного лікування

При застосуванні хітозанової мембрани для лікування хімічного опіку шкіри відзначається зменшення вираженості запальних процесів, про що свідчить зменшення кількості лейкоцитів у тварин молодого та зрілого віку. Зменшення кількості лейкоцитів може бути наслідком антибактеріальних властивостей хітозану та зменшення внаслідок цього бактеріального навантаження на рану [67, 167]. При цьому у тварин старечого віку відбувається зростання кількості запальних клітин на 3-тю добу спостереження, досягаючи рівня тварин молодого та зрілого віку (рис. 4.6). Це, можливо, пов'язане з активізацією клітин лейкоцитарного ряду олігомерами хітозану, про що свідчить ряд досліджень [28]. Особливістю цитологічної картини при застосуванні хітозанової мембрани є стрімке зменшення кількості клітин у терміни з 3-ї до 7-ї доби в усі вікові періоди. Саме в цей термін відбувається перехід від запальної стадії до фази утворення грануляцій, і зменшення запальної реакції

виявляє бути позитивним чинником утворення сполучнотканинного каркасу та росту судин грануляційної тканини [58]. Як видно з графіка (рис. 4.6), найбільш значне зменшення кількості лейкоцитів відбувається у тварин молодого віку, що, ймовірно, пов'язане з високою чутливістю клітин до впливу зовнішніх стимулів, зокрема молекул хітозану.

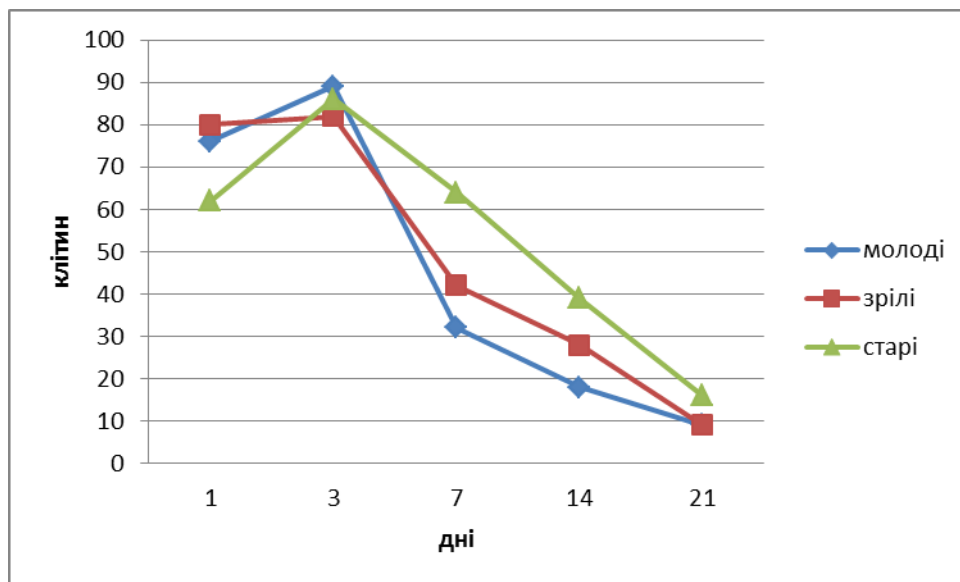


Рисунок 4.6 – Динаміка зміни кількості лейкоцитів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні хітозаної мембрани

Аналізуючи відсотковий вміст лейкоцитів, привертає увагу перевага нейтрофілів, як маркерів септичного запалення в перші терміни спостереження. Як видно з графіка (рис. 4.7), у тварин молодого та зрілого віку відбувається зростання вмісту даних клітин з 1-ї до 3-ї доби спостереження, що відображає розвиток запалення як реакцію на некроз тканин у рані. У тварин молодого віку рівень нейтрофілів досягає  $91,1 \pm 0,28\%$  на 3-тю добу спостереження. При цьому, починаючи з 7-ї доби їх вміст різко зменшується та становить  $11,5 \pm 0,04\%$  та  $13,4 \pm 0,03\%$  на 21-шу добу спостереження відповідно до віку. Зменшення кількості нейтрофілів відображає зниження інтенсивності запалення та формування грануляційної тканини і процеси епітелізації ранової поверхні.

У щурів старечого віку відзначається більш повільна динаміка зменшення відсотка нейтрофілів порівняно з тваринами попередніх вікових груп. Так, зростання їх кількості спостерігається до 7-ї доби, досягаючи рівня  $74,8 \pm 0,37\%$ . Навіть через 14 та 21 доби після травми відсоток даних клітин перевищує показники тварин молодого

віку більше ніж удвічі. Таким чином, наявність високого рівня нейтрофілів може свідчити про персистуюче запалення на поверхні рани у тварин старечого віку, що може мати наслідком уповільнення процесів регенерації.

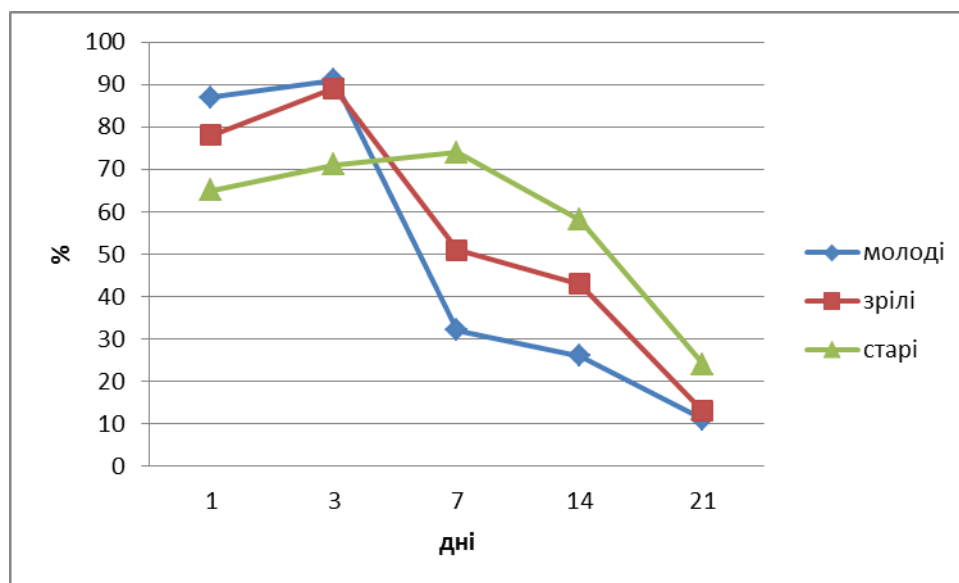


Рисунок 4.7 – Динаміка зміни відсотка нейтрофілів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні стандартного лікування

При застосуванні хітозанової мембрани для лікування кислотної травми шкіри не відбувається зменшення відсотка нейтрофілів у перші терміни спостереження порівняно з контролем. При цьому відбувається зміна динаміки їх зменшення відповідно до термінів спостереження. Так, у щурів молодого та зрілого віку не відбувається достовірного зростання вмісту даних клітин на 3-тю добу після травми та більш швидке їх зменшення в інші терміни спостереження (рис. 4.8). На 21-шу добу після травми відсоток нейтрофілів становить  $8,2 \pm 0,07\%$  та  $10,8 \pm 0,09\%$ , що достовірно менше, ніж при використанні стандартного лікування.

У щурів старечого віку спостерігається зростання відсотка нейтрофілів лише до 3-ї доби спостереження з поступовим їх зменшенням в інші терміни після травми. На 21-шу добу відсоток нейтрофілів становить лише  $18,2 \pm 0,28\%$ , що на  $26,02\%$  ( $p \leq 0,05$ ) менше за контроль. Загалом зменшення відсотка нейтрофілів при застосуванні хітозанового матеріалу може бути наслідком зменшення мікробного навантаження на рану та активізацією ланок місцевого імунітету.

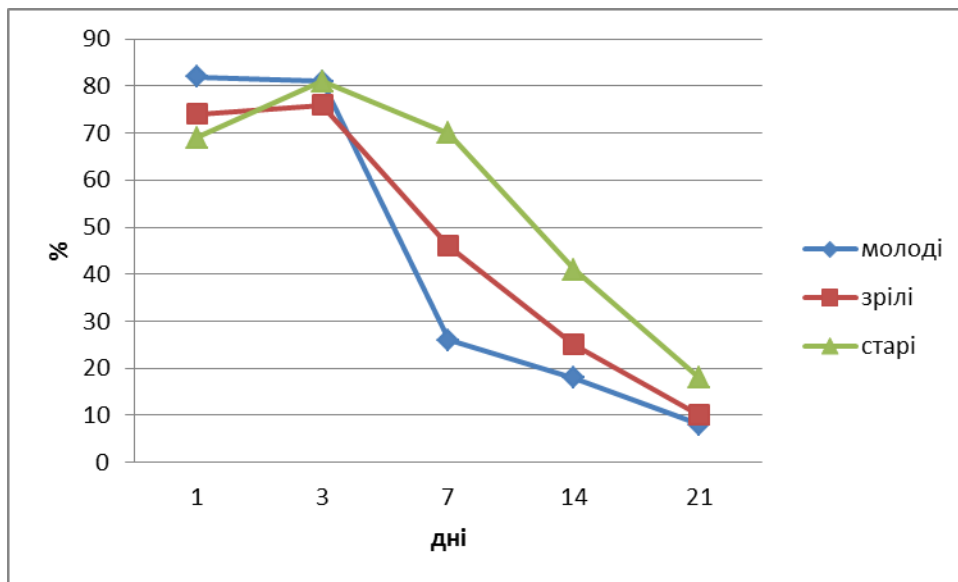


Рисунок 4.8 – Динаміка зміни відсотка нейтрофілів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

Відсотковий вміст лімфоцитів та моноцитів у тварин контрольної та експериментальної серії мають подібну до нейтрофілів динаміку, що свідчить про їх залучення до запального процесу в рані. Використання хітозанової мембрани, таким чином зменшує вираженість запалення та виявляє стимулювальний вплив на процеси регенерації.

Макрофаги відіграють основну роль в очищенні рани від гнійно–некротичної кірки та беруть участь в елімінації мікроорганізмів та механізмах місцевого імунного захисту [5, 14, 59]. Таку саму роль відіграють і полібласти, динаміка вмісту яких повністю співпадає з макрофагами. Ці клітини з'являються в рані на 3-тю добу спостереження у невеликій кількості в усі вікові періоди, проте їх відсоток у тварин старечого віку майже удвічі менший (рис. 4.9). Із 7-ї до 14-ї доби відсоток фагоцитуючих клітин у тварин молодого та зрілого віку зростає відповідно до  $21,9 \pm 0,11\%$  та  $19,7 \pm 0,17\%$  та зменшується до 21-ї доби майже удвічі. У тварин старечого віку кількість даних клітин постійно зростає, хоча рівень приросту є незначним. Зростання вмісту макрофагів до 21 доби свідчить про наявність вогнищ запалення та некрозу.

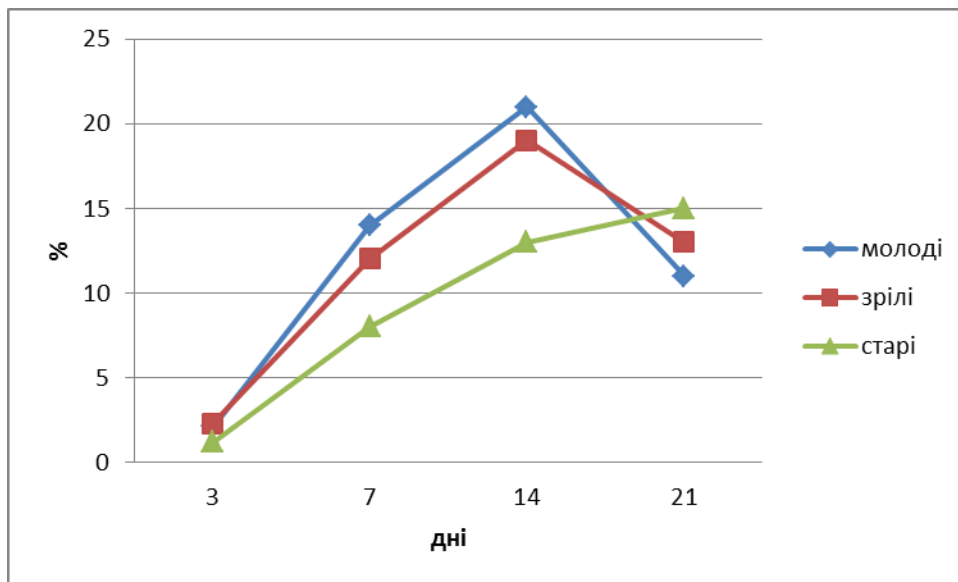


Рисунок 4.9 – Динаміка зміни відсотка макрофагів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні стандартного лікування

Використання хітозану для місцевого лікування хімічної травми призводить до зростання вмісту макрофагів на поверхні рани. Є докази щодо хемотаксичного впливу продуктів деградації хітозану та хітину стосовно макрофагів в опіковій рані [37]. Проте в експерименті ми одержали різну чутливість цих клітин відповідно до віку. Як видно з графіка, кількість макрофагів у тварин молодого та зрілого віку зростає майже утричі, у той час, як у щурів старечого віку зростання відсотка клітин є незначним (рис. 4.10). Надалі до 7-го дня експерименту відбувається достовірне зростання відсотка макрофагів в усіх вікових групах, але приріст клітин у старечих щурів все ще є незначним. У тварин перших вікових груп, ймовірно, відбувається зростання активності макрофагів та більш швидке очищення рани від некротичних мас та мікроорганізмів, що виявляється у зменшенні кількості фагоцитуючих клітин до 14 дня після травми з подальшим зменшенням їх відсотка відповідно до  $12,6 \pm 0,03\%$  та  $9,3 \pm 0,11\%$ . У щурів старечого віку рівень макрофагів зменшується на 21 добу, що не спостерігалось у контрольній групі. Це свідчить про зростання активності клітин та очищення рани від залишків некротично змінених тканин.



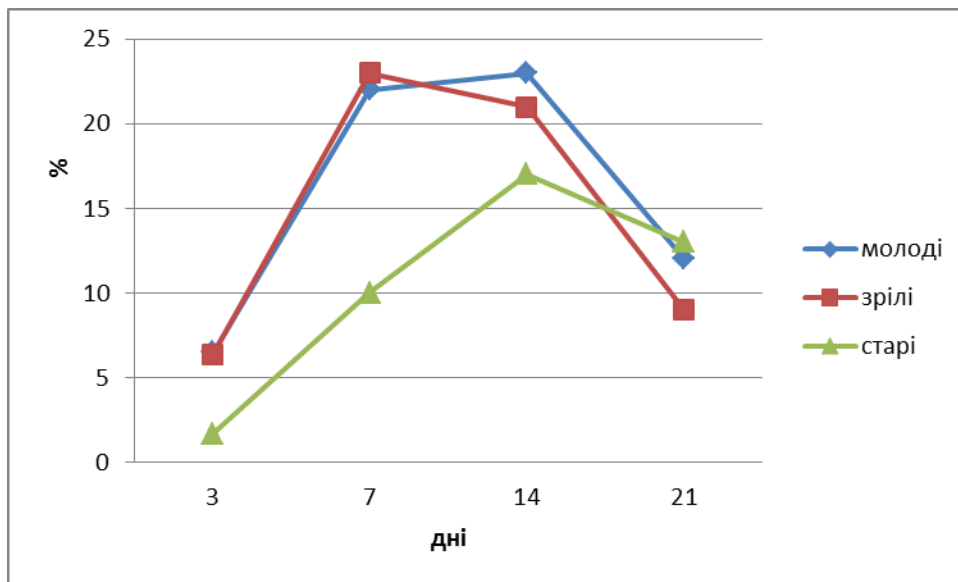


Рисунок 4.10 – Динаміка зміни відсотка макрофагів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани.

Фібробласти відносять до клітин, що здатні синтезувати сполучнотканинний матрикс, а саме колагенові та еластичні волокна. У відбитках із поверхні ран фібробласти візуалізуються з 7-ї доби спостереження, хоча розвиток грануляційної тканини розпочинається вже з 3-ї доби після травми. Відсоток фібробластів у рані виявляє виражену залежність від віку – найбільша їх кількість спостерігається у тварин молодого віку і становить  $9,2 \pm 0,11\%$  від загальної кількості клітин у мазку. З віком відбувається зменшення відсотка даних клітин у 1,5 рази, досягаючи  $4,7 \pm 0,10\%$  у тварин старечого віку. У подальшому спостерігається збільшення відсотка клітин, рівень яких досягає від  $20,5 \pm 0,29\%$  у тварин старечого віку до  $32,9 \pm 0,23\%$  – у молодих особин.

При використанні хітозанової мембрани фібробласти виявляються через 3 доби у тварин молодого та зрілого віку, що може свідчити про створення оптимального мікрооточення на поверхні рани (рис. 4.11). Також є достеменні дані щодо стимуляції міграції фібробластів у культурі за наявності олігомерів хітозану, що утворюються під час його біодеградації [121, 141]. Відсоток сполучнотканинних клітин зростає у молодих та зрілих тварин більше ніж удвічі через 7 днів після травми порівняно з контролем. У тварин старечого віку відсоток фібробластів зростає на  $54,7\%$  ( $p=0.016$ ) порівняно з контролем. Як видно з графіка (рис. 4.11) кількість фібробластів зростає

зі збільшенням терміну спостереження та перевищує контроль через 21 добу відповідно до віку на 23,76% ( $p=0.015$ ), 18,54% ( $p=0.0094$ ) та 9,65% ( $p=0.0065$ ).

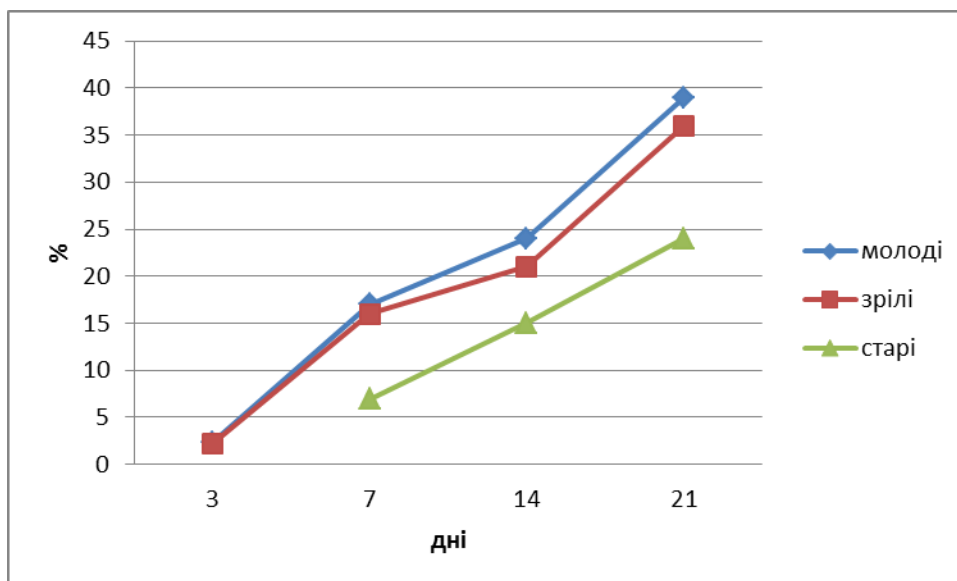


Рисунок 4.11 – Динаміка зміни відсотка фібробластів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

Кількість ендотеліоцитів у мазках із поверхні рани може опосередковано свідчити про динаміку утворення нових судин у регенераті шкіри. У щурів контрольної групи ми спостерігаємо появу цих клітин із 7-ї доби після травми. Як і у випадку з фібробластами, перші судини грануляційної тканини візуалізуються на гістологічних препаратах, проте ендотеліоцити в мазках виявляються лише через 1 тиждень. Також спостерігаються вікові відмінності, що полягають у зменшенні відсотка клітин з  $2,9\pm 0,06\%$  у молодих тварин до  $1,8\pm 0,06\%$  – у щурів старечого віку. До 21-ї доби спостереження кількість клітин зростає незначно, проте це не може повною мірою свідчити про динаміку ангіогенезу, оскільки цей тип клітин не є характерним для ранового вмісту.

При використанні хітозану для місцевого лікування ран ми спостерігаємо значний ріст кількості ендотеліоцитів у відбитках з поверхні рани. Більше того, клітини цього типу виявляються у тварин молодого та зрілого віку вже на 3 добу після травми. Зростання кількості ендотеліоцитів у мазках може опосередковано свідчити про стимулюючі властивості хітозану стосовно процесів ангіогенезу, що підтверджується даними деяких дослідників [136]. При цьому, як видно з графіка (рис. 4.12), динаміка зростання відсотка клітин у тварин старечого віку значно відстає

від попередніх вікових груп, що свідчить про зменшення чутливості ендотеліоцитів до чинників, які підсилюють ангиогенез. На 21-шу добу після травми відсоток ендотеліоцитів перевищує контроль на 29,73% ( $p=0.079$ ) у молодих тварин, на 27,94% ( $p=0.19$ ) – у зрілих та на 16,67% ( $p=0.068$ ) – у щурів старечого віку.

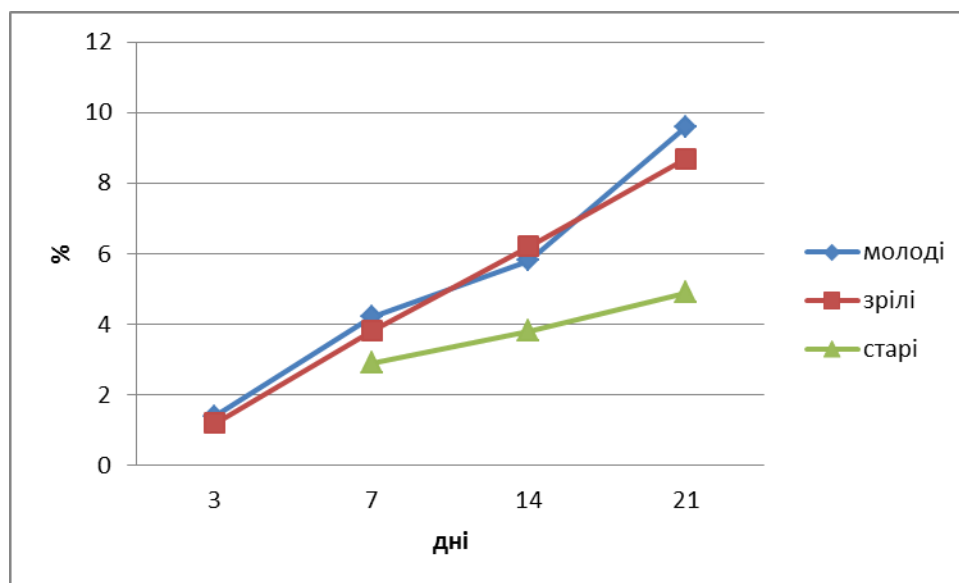


Рисунок 4.12 – Динаміка зміни відсотка ендотеліоцитів на поверхні рани у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

На жаль, об'єктивно оцінити кількість епітеліоцитів у мазках важко, проте у тварин молодого та зрілого віку вони починають формувати пласти вже з 14 дня після травми, в той час як у щурів старечого віку – лише в останній термін спостереження. При використанні хітозану ми спостерігаємо більшу кількість клітин у полі зору та початок формування груп та пластів епітеліоцитів вже на 14 добу в усі вікові періоди. Є поодинокі свідчення стимуляції міграції епітеліоцитів в культурі клітин за наявності хітозану [136]. Проте, на нашу думку, основною причиною прискорення епітелізації поверхні є комплексний вплив, який включає в себе зменшення запалення на початкових стадіях регенерації та стимуляцію утворення сполучної тканини і судин на стадії утворення грануляцій. Вирішальним є також факт створення оптимального вологого середовища в рані, на що вказують чисельні дослідження [4, 107, 108].

Дані гістоморфометрії свідчать про розвиток набряку тканин, що виявляє в своїй основі судинну реакцію у вигляді повнокров'я та периваскулярного випоту. Вираженість набряку залежить від віку. У тварин старечого віку контрольної серії

відносна площа стромального набряку на 12,89% ( $p=0.035$ ) перевищує показники молодих тварин та на 25,11% ( $p=0.012$ ) – зрілого віку. У тварин молодого віку відбувається поступове зменшення площі набряку, який складає на 14-ту добу  $8,65 \pm 0,26\%$  та відсутній на 21-й день після травми. У щурів зрілого та старечого віку на 3 добу відбувається збільшення відносної площі набряку з поступовим зменшенням. Як видно з графіку (рис. 4.13), у тварин зрілого віку динаміка зменшення набряку є стрімкою, у той час як у щурів старечого віку він наявний навіть через 21 добу після нанесення хімічної травми.

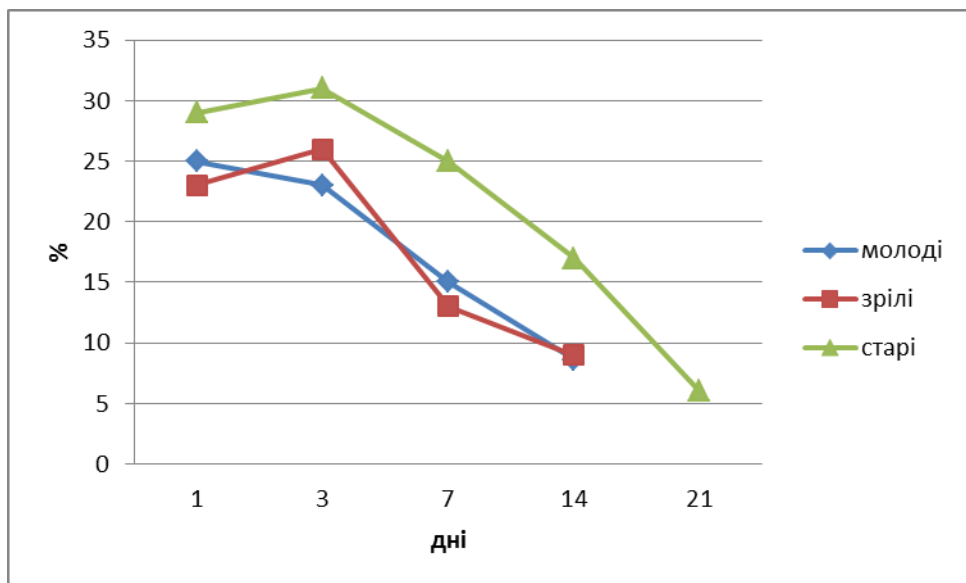


Рисунок 4.13 – Динаміка зміни відносної площі стромального набряку тканин рани у тварин різного віку при застосуванні стандартного лікування

Використання хітозанової мембрани для місцевого лікування хімічного опіку призводить до зменшення відносної площі стромального набряку в 1-шу добу спостереження лише у тварин молодого віку. У подальшому достовірна різниця з контролем спостерігається у тварин молодого та зрілого віку. У щурів старечого віку різниця з контролем спостерігається через 14 та 21 день після травми. Хоча, як видно з графіка (рис. 4.14), навіть в останній термін спостереження спостерігаються незначні залишки набряку. Аналізуючи можливі механізми зменшення набряку слід звернути увагу на високі сорбуючі властивості хітозанових матеріалів, що зменшує кількість ексудату на поверхні рани. З іншого боку, зменшення запалення та мікробного навантаження може призводити до активізації неоангіогенезу та до нормалізації кровопостачання в неушкоджених ділянках шкіри.

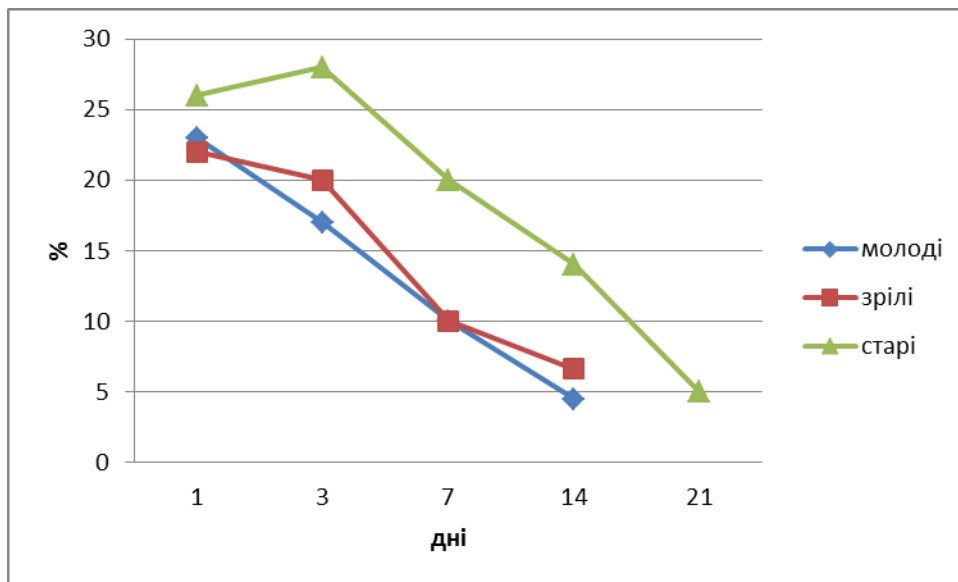


Рисунок 4.14 – Динаміка зміни відносної площі стромального набряку тканин рани у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

В експерименті відбувається зростання відносної площі судин дерми, що, можливо, є наслідком їх повнокров'я. Тим більше, що до кінця експерименту відбувається зменшення їх площі, що супроводжується зникненням стромального та периваскулярного набряків. При використанні хітозанової мембрани відбувається достовірне зменшення відносної площі судин дерми лише у тварин молодого віку, що добре корелює зі зменшенням стромального набряку в данній віковій групі.

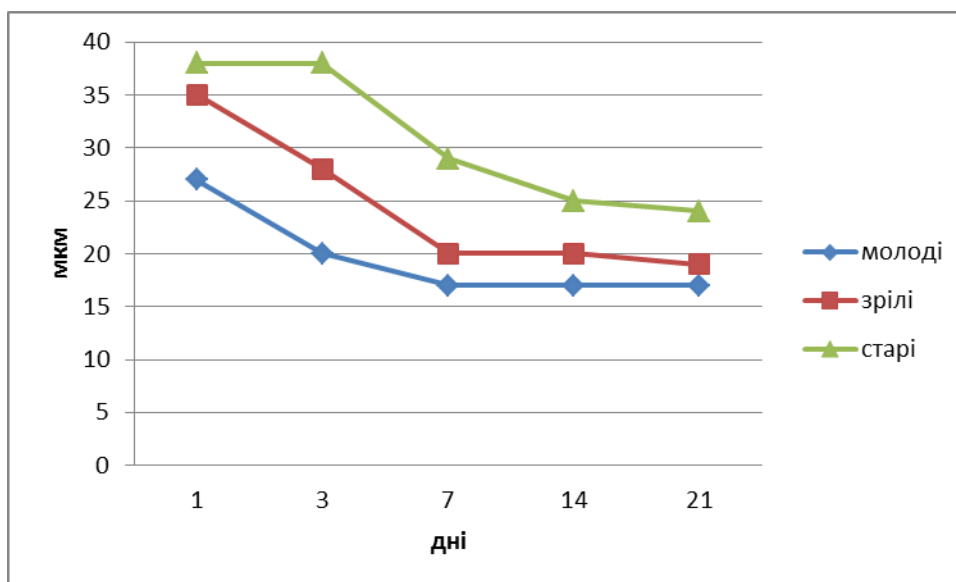


Рисунок 4.15 – Динаміка зміни діаметра судин дерми у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

Середній діаметр судин дерми також зменшується з 1-ї до 21-ї доби спостереження у тварин контрольної та експериментальної серії (рис. 4.15). При цьому достовірна різниця з контролем спостерігається лише у тварин молодого віку.

У тварин усіх вікових груп відбувається зростання відносної площі судин грануляційної тканини, що відповідає строкам її визрівання. Проте, як видно з графіка (рис. 4.16), площа судин є різною у всі вікові групи. Так, починаючи з 3 доби спостереження площа судин у тварин старечого віку майже удвічі менша за показники тварин інших вікових груп. Максимальна відносна площа судин відзначається через 14 днів спостереження та зменшується до 21 доби, що характеризує трансформацію грануляційної тканини в сполучнотканинну основу дерми. Максимальна площа судин у тварин старечого віку менше за показники молодих та зрілих тварин відповідно на 21,57% ( $p=0.032$ ) та 24,22% ( $p=0.047$ ). Через 21 добу після травми достовірна різниця спостерігається лише між тваринами старечого та зрілого віку і становить 13,97% ( $p=0.019$ ).

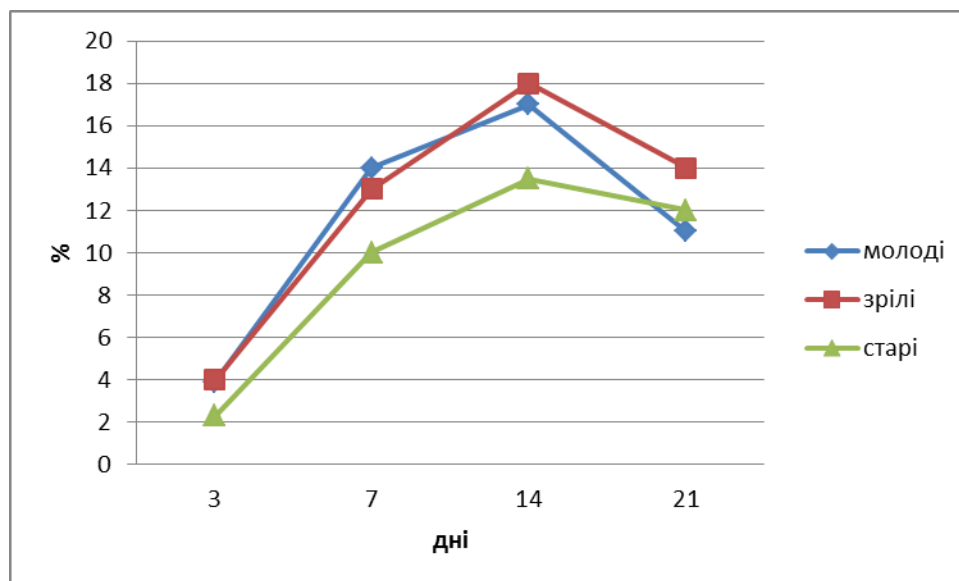


Рисунок 4.16 – Динаміка зміни відносної площі площі судин грануляцій у тварин різного віку при застосуванні хітозанової мембрани

При використанні хітозанової мембрани для лікування опіку спостерігається достовірне зростання відносної площі судин грануляцій у тварин молодого віку через 7 днів після травми та зменшення цього показника вже через 14 днів, що свідчить про прискорення визрівання грануляційної тканини. В інших вікових групах різниця є недостовірною в усі строки спостереження.

Зростання кількості мікроорганізмів на поверхні рани у тварин контрольної серії відбувається з 3-ї доби спостереження, що свідчить про колонізацію бактеріями з поверхні неушкоджених ділянок шкіри та зовнішнього середовища. В усіх вікових групах спостерігається зростання кількості мікроорганізмів на поверхні рани до 14-ї доби та зменшення їх виявлення до 21-ї доби після травми, що відповідає терміну загоєння рани та її епітелізації. У цей термін у щурів молодого та зрілого віку на поверхні шкіри ідентифікуються стафілококи, стрептококи, аспергили та *Bacillus cereus* у незначній кількості, що відповідає нормальній мікрофлорі поверхні шкіри щурів [184]. У тварин старечого віку, окрім зазначених мікроорганізмів, із 3-ї доби виявляється кишкова паличка, кількість якої залишається значною навіть через 21 добу спостереження. Можливим джерелом цього мікроорганізму є фекальні маси і його персистенція стає можливою завдяки зниженню механізмів місцевого імунного захисту. Крім того, на 21-шу добу спостереження у щурів старечого віку виявляються гриби роду *Candida*, що також є показником зниження імунітету [111, 143].

Використання хітозану для місцевого закриття кислотного опіку призводить до зменшення колонізації поверхні рани мікроорганізмами, що виявляється у зменшенні їх кількості на поверхні рани в усі терміни спостереження [61]. Так, у тварин молодого та зрілого віку аспергіли не виявляються взагалі, а їх кількість у щурів старечого віку є мінімальною та клінічно не значимою [74]. У тварин всіх вікових груп на 21-шу добу з поверхні рани виділяються стафілококи та стрептококи у незначній кількості. Також у тварин старечого віку не виділяється кишкова паличка, що свідчить про високі протекторні властивості хітозанової мембрани.

Механізм антибактеріальної дії хітозану полягає у взаємодії позитивно заряджених амідних груп хітозану з негативно зарядженими ділянками мембрани мікробної клітини з подальшою її деструкцією [66, 146, 174]. Також хітозан виступає як хелатуючий агент, який селективно зв'язує метали клітинної стінки бактерій та пригнічує ріст мікроорганізмів [74, 168]. Також існує докази пригнічення синтезу м-РНК мікроорганізмів при проникненні хітозану усередину клітини [196].

Таким чином, співставляючи одержані результати та дані літератури, можна зробити припущення щодо механізмів впливу хітозанової мембрани на прискорення процесів регенерації шкіри тварин після хімічної травми. По-перше, більшість

матеріалів на основі хітозану здатні впливати на вологість поверхні рани шляхом адсорбції надлишку ексудату на перших стадіях загоєння та через попередження її втрати в більш пізні терміни регенерації [6, 26, 189]. Згідно з концепцією вологого загоєння ран нормалізація вмісту рідини на поверхні призводить до оптимізації мікрооточення в рані, зменшення мікробної контамінації та попередження формування трофічних виразок [178]. Крім того, мембрана на основі хітозану проникна для повітря та парів вологи, що попереджає формування «парникового ефекту», що є побічною дією багатьох сучасних перев'язувальних матеріалів [30].

Окрім створення сприятливого оточення в рані, олігомери хітозану, що вивільняються при деградації мембрани, здатні безпосередньо впливати на процеси регенерації через стимуляцію клітин. Є докази регуляції активності фібробластів та макрофагів за наявності хітозану в культурі клітин [51, 78]. Зростання кількості макрофагів та підвищення їх активності повинне прискорити процеси очищення поверхні рани від некротично змінених тканин та зменшити мікробне навантаження на поверхню дефекту. Регуляція активності фібробластів може впливати на швидкість утворення грануляційної тканини та формування міжклітинного матриксу дерми [60]. Є докази стимуляції ангиогенезу у присутності олігомерів хітозану, що також виявляє на формування грануляційної тканини. Деякі автори свідчать про більш впорядковану орієнтацію колагенових волокон в присутності хітозану, що, в свою чергу, може попереджувати формування післяопераційного рубця [117, 127]. Саме клітинні механізми впливу можуть пояснити меншу ефективність мембрани у тварин старечого віку.

Крім того, зменшення мікробного навантаження на поверхню рани призводить до прискорення процесів регенерації. Як відомо, бактеріальне запалення призводить до уповільнення формування грануляційної тканини та епітелізації поверхні рани [61, 74]. Хронізація запалення може також призвести до утворення ран, що довго не загоюються. [93]. Як видно з експерименту, хітозан виявляє майже однакову антибактеріальну активність у тварин всіх вікових груп. Зменшення ефективності матеріалу у щурів старечого віку можна пояснити зменшенням активності макрофагальної ланки імунного захисту з віком.



Загалом використання хітозанової мембрани для лікування кислотного опіку шкіри призводить до прискорення очищення поверхні рани від загиблих тканин, більш швидкої появи грануляцій та епітелізації поверхні рани. Більш виражена дія спостерігається у тварин молодого та зрілого віку, проте навіть у щурів старечого віку використання матеріалу є ефективним.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене вирішення актуальної медико-біологічної задачі – визначення морфофункціональних особливостей регенерації ділянки шкіри після нанесення кислотної травми та застосування матеріалу на основі низькомолекулярного хітозану для прискорення процесів регенерації у тварин молодого, зрілого та старечого віку.

1. Після моделювання кислотної травми відбувається формування некрозу та струпу на поверхні рани з наступним утворенням на їх місці грануляцій та епітелізації рани. Площа некрозу у тварин старечого віку перевищує показник щурів молодого та зрілого віку на 10,5% ( $p=0.027$ ) та 6,91% ( $p=0.041$ ). Формування грануляційної тканини розпочинається з 3-ї доби після травми та відбувається більш повільно у тварин старечого віку. Епітелізація поверхні рани розпочинається з периферійних ділянок та не завершується до 21 доби спостереження. Найбільший відсоток епітелізованих ділянок спостерігається у тварин молодого та зрілого віку. Характерною відмінністю будови ділянки шкіри у тварин старечого віку після нанесення кислотної травми є формування виражених рубцевих зміни.
2. Після травми у контрольних тварин відбувається очищення рани від некрозу, відносна площа якого відповідно віку становить через 14 днів  $6,11 \pm 0,15$  %,  $8,23 \pm 0,89$  % та  $13,09 \pm 0,65$  %. Ці процеси відбуваються за участі макрофагів та лейкоцитів, кількість яких вища у тварин молодого та зрілого віку. У щурів цих вікових груп відбувається інтенсивне утворення грануляційної тканини, багатой на судини та фібробласти з подальшою її епітелізацією до 21-ї доби. Відносна площа епітелізованих ділянок на 21 добу становить від  $68,44 \pm 2,48$ % у тварин старечого віку до  $89,86 \pm 0,36$ % - у молодих щурів.
3. Застосування хітозанової мембрани призводить до зменшення площі дефекту у порівнянні з контролем на 21-шу добу від 28,00% ( $p=0.01$ ) у тварин старечого віку до 40,75% ( $p=0.001$ ) – у молодих щурів. Прискорення загоєння кислотного опіку відбувається за рахунок очищення рани від некротичних мас та

- оптимізації формування грануляційної тканини і процесів епітелізації, особливо у тварин молодого та зрілого віку. Відносна площа епітелізованих ділянок у експериментальних тварин становить відповідно віку  $92,45 \pm 2,52$  % ( $p=0.29$ ),  $89,44 \pm 4,41$  % ( $p=0.021$ ) та  $75,12 \pm 1,47$  % ( $p=0.043$ ).
4. Використання матеріалу на основі хітозану при кислотному опіку призводить до зменшення лейкоцитарної інфільтрації тканин рани, відсоток нейтрофілів при цьому становить у тварин експериментальної серії молодого та зрілого віку на 21-шу добу спостереження  $8,2 \pm 0,37$  % ( $p=0.013$ ) та  $10,8 \pm 0,49$  % ( $p=0.0048$ ) відповідно. У тварин усіх вікових груп відбувається зростання кількості макрофагів на ранніх етапах загоєння дефекту та фіброblastів і епітеліоцитів, починаючи з 7-ї доби спостереження, що є передумовою прискорення регенераторних процесів.
  5. Процеси регенерації шкіри при використанні хітозанового покриття характеризуються зменшенням відносної площі периваскулярного та стромального набряків шкіри на  $48,21$  % ( $p=0.0019$ ) на 14 добу спостереження у тварин молодого віку та прискоренням формування сполучної тканини. У тварин молодого та старечого віку відбувається стимуляція процесів ангіогенезу, що призводить до покращення кровопостачання новоутворених тканин рани. На 21-й день спостереження в усіх вікових групах спостерігається значне зменшення формування рубцевої тканини, особливо у тварин старечого віку.
  6. Процеси регенерації шкіри супроводжуються колонізацією поверхні рани мікроорганізмами, кількісний та якісний склад яких значно більший у тварин старечого віку, що може призводити до пригнічення процесів епітелізації травмованої ділянки. Використання хітозану для лікування кислотного опіку призводить до уповільнення процесів контамінації шкіри мікроорганізмами та значно зменшує їх кількість, особливо у тварин старечого віку, що свідчить про виражені антибактеріальні властивості матеріалу та виявляє стимулювальний вплив на процеси регенерації.
  7. Вікові особливості процесів регенерації шкіри при застосуванні хітозанової мембрани полягають у меншій чутливості клітин регенерату тварин старечого

віку до дії активного агента, що проявляється в уповільненні очищення рани, утворення грануляційної тканини та судин. Проте в усіх вікових групах відзначається позитивний ефект, що характеризується зменшенням термінів епітелізації рани та профілактикою утворення рубцевої тканини.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 239 с.
2. Андреев Д. Ю. Современные раневые покрытия / Д. Ю. Андреев, Б. А. Парамонов, А. М. Мухтарова // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 2009. – Т. 168, № 3. – С. 98–102.
3. Балабаев В. С. Хитин и хитозан – материалы XXI века / В. С. Балабаев, Л. В. Антипова // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 6. – С. 130.
4. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
5. Болтовская В. В. Патоморфология раневого процесса в зоне глубокого ожога кожи в условиях применения низкоинтенсивного электромагнитного излучения: автореф. дис. канд. мед. наук. : спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / В. В. Болтовская. – Саратов, 2006. – 14 с.
6. Бузинова Д. А. Сорбционные и бактерицидные свойства пленок хитозана / Д. А. Бузинова, А. Б. Шиповская // Известия Саратовск. ун-та. Серия «Химия, биология, экология». – 2008. – Т. 8, № 2. – С. 42–45.
7. Взаимодействие иммуноцитов в репаративной регенерации кожи / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 453–459.
8. Використання хітозану для лікування пошкоджень різної етіології / М. В. Погорелов, О. В. Калінкевич, О. В. Солодовник [та ін.] // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 2 (61). – С. 150–154.
9. Гистогенетические основы раневого процесса. / Р. К. Данилов, В. Г. Гололобов, Б. А. Григорян [и др.] // Материалы докладов VI Всеросс. съезда АГЭ, (Саратов, 23–26 сентября, 2009) // Морфология. – 2009. – Т. 136, Вып. 4. – С. 47–48.
10. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, щовикористовують ся для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986.) [електронний ресурс]: офіційний переклад / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. –

- (Міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа : [http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/994\\_137](http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/994_137).
- 11.Класифікація опікових ран за глибиною ураження / Е.Я. Фісталь, М.Ю. Повстяний, Г.П. Козинець, Т.Г. Григор'єва, С.В. Слесаренко // *Метод. рекомендації*. — Донецьк, 2003. — 16 с.
  12. Культивирование эпителиоподобных клеток на пленочных матриксах из хитозана [электронный ресурс] / Д.А. Бузинова, Е. А. Хмельницкая, А.Б. Шиповская [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. - 2011. – Т. 6, № 1. – С.82-84.– Режим доступа к ресурсу : <http://www.cyberleninka.ru/article/n/kultivirovanie-epiteliopodobnyh-kletok-na-plenochnyh-matriksah-iz-hitozana>.
  - 13.Ледовской С. Н. Анализ клинической эффективности применения фетальных и зрелых аллогенных диплоидных фибробластов в лечении пограничных ожогов кожи / С. Н. Ледовской, Ю. Е. Бурда, В. А. Лазаренко // *Успехи современного естествознания*. – 2008. – № 9. – С. 92–94.
  - 14.Матеріали для лікування дефектів шкіри: перспективи застосування похідних хітозану / М. В. Погорєлов, В. В. Корнієнко, Ю. А. Ткаченко [та ін.] // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 275–285.
  - 15.Матрицы для культивирования клеток кожи человека на основе природных полисахаридов – хитина и хитозана [электронный ресурс] / Е. Ф. Панарин, Л. А. Нудьга, В. А. Петрова [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2009. – Т. 4, № 3. – С. 42–46. – Режим доступа к ресурсу : <http://www.cyberleninka.ru/article/n/matritsy-dlya-kultivirovaniya-kletok-kozhi-cheloveka-na-osnove-prirodnih-polisaharidov-hitina-i-hitozana>.
  - 16.Моделирование дефектов кожи у экспериментальных животных / А. Н. Олешко, В. В. Корниенко, Ю. А. Ткаченко [и др.] // *Georgian Medical News*. – 2015. – № 2 (239). – С. 103 – 108.
  - 17.Новый взгляд на применение полимерных матриц и клеточных технологий в хирургии термических поражений / Н. В. Островский, А. Б. Шиповская, Д. А. Бузинова [и др.] // *Клеточные технологии и регенеративная медицина в*

- хирургии и трансплантологии : матер. городской науч.-практ. конф. – Москва, 2009. – Вып. 207, Т. 22. – С. 6–11.
18. Особенности лечения глубоких ожогов у детей раннего возраста / Докукина Л.Н., Кислицын П.В., Атясова М.Л., Куприянов В.А. // Сб. научн. трудов I съезда комбустиологов России. — М., 2005. — С. 161-162.
19. Пат. № 91169 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання дозованої травми шкіри з руйнуванням всіх її шарів в умовах експерименту на лабораторних тваринах / Олешко О. М., Корнієнко В. В., Ткаченко Ю. А. [та ін.] ; патентовласник Сумський державний університет. – № у 2014 00251 ; заявл. 13.01.14 ; опубл. 25.06.14, Бюл. № 12.
20. Повстяной Н. Е. Состояние помощи больным с термическими повреждениями и их последствиями в Украине / М. Е. Повстяной // Матеріали ХХ з'їзду хірургів України. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – С. 97–101.
21. Повстяной Н.Е. Состояние помощи больным с ожогами и их последствиями в Украине / Е.Н. Повстяной // Международный медицинский журнал. – 2003. – Т.9, №2. – С. 97 – 101.
22. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України № 3447–IV від 21.02.2006 р. [електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. Веб-сайт. Режим доступу до документа : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.
23. Самойленко Г.Е Синдром полиорганной недостаточности в хирургии ожогов у детей / Г.Е. Самойленко // Травма. — 2000. — Том 1. — № 1. — С. 46-52.
24. Стан надання спеціалізованої медичної допомоги хворим з опіками в Україні / Козинець Г.П., Таран В.М., Комаров М.П., Воронін А.В. та ін. // Матеріали ХХІ з'їзду хірургів України. — Запоріжжя, 2005. — С. 31-33.
25. Учебное пособие по общей патологии: иммунный ответ, воспаление / А. А. Майборода, Е. Г. Кирдей, И. Ж. Семинский, Б. Н. Цибель. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 112 с.
26. Федосеева Е. Н. Механические свойства пленок хитозана различной молекулярной массы / Е.Н. Федосеева, М. Ф. Алексеева, Л. А. Смирнова // Вестник Нижегородского ун-та им.Н. И. Лобачевского. – 2008. – № 5. – С. 58–62.

27. Фисталь Э. Я. Осложнение ожоговых ран: классификация, клиника, профилактика, лечение / Э. Я. Фисталь // Комбустииология. – 2003. – № 4. – С. 55–57.
28. Хитозан: структура и свойства. Использование в медицине / Ю. А. Петрович [и др.] // Стоматология. – 2008. – Т. 87, № 4. – С. 72–78.
29. A new porous polyetherurethane wound covering / P. Bruin, M.F. Jonkman, H.J. Meijer // Biomed Mater Res. – 1990. – V. 24. – P. 217–26.
30. A novel in situ-formed hydrogel wound dressing by the photocross-linking of a chitosan derivative / G. Lu, K. Ling, P. Zhao [et al.] // Wound Repair Regen. – 2010. – V. 18. – P. 70–9.
31. A prospective study of burns trauma in children in the University of Calabar Teaching Hospital, Calabar, south–south Nigeria / Maurice E. Asuquo, Rijami E., Ogbu N. [et al.] // Burns. – 2009. – V. 35, Issue 3. – P. 433 - 436
32. A review of treatment strategies for hydrofluoric acid burns: current status and future prospects / Wang X., Zhang Y., Ni L. [et al.] // Burns. – 2014. – V. 40. – P. 1447–1457.
33. A trial to assess the efficacy and tolerability of Hyalofill-F in non-healing venous leg ulcers / V. Colletta, D. Dioguardi, A. Di Lonardo [et al.] // Wound Care. - 2003. – V. 12. – P. 357 - 60.
34. Acute hydrofluoric acid exposure reported to Taiwan Poison Control Center, 1991–2010 / Wu M.L., Yang C.C., Ger J. [et. Al] // Hum Exp Toxicol. – 2014. – V. 33. – P. 449–454.
35. of activated charcoal on enterohemorrhagic Escherichia coli / Naka K., Watarai S., Tana K. [et al.] // Vet Med Sci. – 2001. – V. 63. – P. 281- 5.
36. Ahmadi H. Chemical burns: a review / Ahmadi H., Durrant C.T., Sarraf K.M. // Curr Anaesth Crit Care. – 2008. – V. 19(5). – P. 282 - 286.
37. Alsharabasy A.M. Physical preparation of alginate / chitosan polyelectrolyte complexes for biomedical applications / Alsharabasy A.M., Moghannem S.A., El-Mazny W.N. // J Biomater Appl. – 2016. – V. 30(7). – P. 1071-1079.



38. An evaluation of Hyalofill-F plus compression bandaging in the treatment of chronic venous ulcers / P. Taddeucci, E. Pianigiani, V. Colletta [et al.] // *Wound Care*. – 2004. – V. 13. – P. 202–4.
39. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan / X. F. Liu, Y. L. Guan, D. Z. Yang [et. al] // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2001. – V. 79(7). – P. 1324–1335.
40. Antibacterial activity of optically transparent nanocomposite films based on chitosan or its derivatives and silver nanoparticles / Ricardo J.B., Susana C.M., Carmen S.R. [et al.] // *Carbohydrate Research* – 2012. – V. 348. – P. 77–83
41. A plasma modified cellulose-chitosan porous membrane allows efficient DNA binding and provides antibacterial properties: A step towards developing a new DNA collecting card / Chumwangwapee S, Chingsungnoen A, Siri S. [et al] // *Forensic Sci Int Genet*. – 2016. – V. 25. – P. 19–25.
42. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: Induction of morphological and cytological alternations in *Rhizopus stolonifer* / E.I. Ghaouth, A. Arul, J. Asselin [et. al] // *Mycological Research*. – 1992. – V. 96(9). – P. 769–779.
43. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison / M. Ip, S.L. Lui, V.K. Poon [et. al] // *J Med Microbiol*. – 2006. – V. 55. – P. 59–63.
44. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure / A. M. Papineau, D. G. Hoover, D. Knorr [et al] // *Food Biotechnology*. – 1991. – V. 5(1). – P. 45–57.
45. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan / R. Muzzarelli, R. Tarsi, O. Filippini [et. al] // *Antimicrob Agents Chemother*. – 1990. – V. 34. – P. 2019–2023.
46. Apelqvist J. Cavity foot ulcers in diabetic patients: a comparative study of cadexomer iodine ointment and standard treatment. An economic analysis alongside a clinical trial / J. Apelqvist, G. Ragnarson Tennvall // *Acta Derm Venereol*. – 1996. – V. 76. – P. 231–5.
47. Balakrishnan B. Self cross-linking biopolymers as injectable in situ forming biodegradable scaffolds / B. Balakrishnan, A. Jayakrishnan // *Biomaterials*. – 2005. – V. 26. – P. 3940–3951

48. Belgacem M. N. Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources / M. N. Belgacem, A. Gandini // 1st ed.; Elsevier: London, 2008. pp. 526–530.
49. Beta-chitin-based wound dressing containing silver sulfurdiazine / Y.M. Lee, S.S. Kim, M.H. Park [et al.] // *J Mater Sci Mater Med.* – 2000. – V. 11. - P. 817–23.
50. Bioactive and osteoblast cell attachment studies of novel  $\alpha$ -, and  $\beta$ -chitin membranes for tissue engineering applications / R. Jayakumar, V.V. Divya, K.T. Shalumon [et al.] // *Biol Macromol.* – 2009. – V. 45. – P. 260–4.
51. Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing / Chun-Mei Deng, Lan-Zhen He, Ming Zhao [et al.] // *Carbohydrate Polymers.* – 2007. – V. 69. – P. 583–589
52. Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing / D. Chum-Mei, H. Lang-Zhen, Z. Ming [et. al] // *Carbohydrate Polymers.* – 2007. – V. 69. – P. 583-589.
53. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications / R. Jayakumar, M. Prabakaran, P.T. Sudheesh [et. al] // *Biotechnology Advances.* - 2011. – V. 29. – P. 322–337.
54. Biomedical applications of chitin hydrogel membranes and scaffolds / H. Tamura, T. Furuike, S.V. Nair [et al.] // *Carbohydr Polym.* - 2010.
55. Boateng J. Advanced therapeutic dressings for effective wound healing - a review / J. Boateng, O. Catanzano // *J Pharm Sciences.* – 2015. – V. 104. – P. 3653–3680.
56. Bollas C. In case of emergency / C. Bollas, J. Coffey // *Occup Health Saf.* - 1998. – V. 67(5). – P. 50–52.
57. Brent J. Water-based solutions are the best decontaminating fluids for dermal corrosive exposures: a mini review / J. Brent // *Clin Toxicol (Philadelphia).* – 2013. – V. 51(8). – P. 731–736.
58. Burn wound infections / D. Church, S. Elsayed, O. Reid [et. al] // *Clin Microbiol Rev.* – 2006. – V.19. – P. 403–34
59. Burns, inhalation injury and ventilator-associated pneumonia: value of routine surveillance cultures / N. Brusselaers, D. Logie, D. Vogelaers [et. al] // *Burns.* – 2012. – V. 38. – P. 364–370.

60. Changes in cellular motility and cytoskeletal actin in fibroblasts from patients with chronic venous insufficiency and in neonatal fibroblasts in the presence of chronic wound fluid // J.D. Raffetto, M.V. Mendez, B.J. Marien [et al.] // *J. Vasc Surg.* - 2001. – V. 33. – P. 1233-41.
61. Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients / S. Erol, U. Altoparlak, M. N. Akcay, F. Celebi // *Burns.* – 2004. – V. 30. – P. 357-361
62. Covalently antibacterial alginate-chitosan hydrogel dressing integrated gelatin microspheres containing tetracycline hydrochloride for wound healing/ H. Chen, X. Xing, H. Tan [et al] // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2017. – V. 70. – P. 287–295.
63. Characterization and ornidazole release in vitro of a novel composite film prepared with chitosan/poly(vinyl alcohol)/alginate / H.N. Pei, X.G. Chen, Yü Li [et al.] // *J Biomed Mater Res* – 2008. – V. 85A. – P. 566–72
64. Chemical burns / Mazingo D.W., Smith A.A., McManus W.F. [et. al] // *J Trauma.* – 1988. – V. 28. – P. 642–647.
65. Chemical burns: pathophysiology and treatment / R. Palao, I. Monge, M. Ruiz [et. al] // *Burns.* – 2010. – V. 36(3). – P. 295–304.
66. Chitosan as an antibacterial compound: Insights into its mode of action / D. Raafat, K. von Barga, A. Haas [et. al] // *Appl Environ Microbiol.* - 2008. – V. 74(12). – P. 3764–3773.
67. Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action / E. I. Rabea, M. E. T. Badawy, C. V. Stevens [et. al] // *Biomacromolecules.* -2003. – V. 4(6). – P. 1457–1465.
68. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application / A.K. Azad, N. Sermsintham, S. Chandrkrachang [et al.] // *J Biomed Mater Res Appl Biomater.* – 2004. – V. 69B. – P. 216–22.
69. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers / D.S. Vicentini, Jr. A. Smania, M.C.M. Laranjeira [et al] // *Mater Sci Eng.* - 2010. – V. 30. – P. 503–8.

70. Chitosan/polyethylene glycol diacrylate films as potential wound dressing material / Z. Zhang, D. Yang, J. Nie [et al] // *Int J Biol Macromol.* - 2008. – V. 43. – P. 456–62.
71. Chitosan-hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies / H. Xu, L. Ma, H. Shi [et al.] // *Polym Adv Technol.* - 2007. – V. 18. – P. 869 – 75.
72. Cho Y W. Water-soluble chitin as a wound healing accelerator / Y.W. Cho, Y.N. Cho, S.H. Chung // *Biomaterials.* - 1999. – V. 20. – P. 2139–45.
73. Clinical outcome of HIV positive patients with moderate to severe burns \ J. Edge, A. E. Van der Merwe, C. H. Pieper [et al] // *Burns.* – 2012. – V. 27. – P. 111-114.
74. Colonization of burns and the duration of hospital stay of severely burned patients / W.L. Manson, P. C. Pernot, V. Fidler [et al] // *J. Hosp. Infect.* – 1998. – V. 22. – P. 55-63.
75. Common pathogens in burn wound and changes in their drug sensitivity / E Rezaei, H Safari, M Naderinasab [et. al] // *Burns.* – 2011. – V. 37. – P. 805–807.
76. Cuero R. G. N-carboxymethyl chitosan inhibition of aflatoxin production: Role of zinc. / Cuero R. G., Osuji G., Washington A. // *Biotechnology Letters.* – 1991. – V. 13(6). – P. 441–444.
77. Cultured fibroblasts from chronic diabetic wounds on the lower extremity (non-insulin-dependent diabetes mellitus) show disturbed proliferation / M.A. Loots, E.N. Lamme, J.R. Mekkes [et al.] // *Arch Dermatol Res.* - 1999. – V. 291. - P. 93 - 9.
78. Cytotoxicity and wound healing properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by irradiation followed by freezethawing / X. Yang, K. Yang, S Wu [et al.] // *Radiat Phys Chem.* – 2010. – V. 79. – P. 606–11.
79. Deborah L. E. Burns / L. E. Deborah // *Critical Care Nursing Clinics of North America.* – 2013. – V.25 (2). – P. 273–285.
80. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties / Ong Shin-Yeu, Wu Jian, Shabbir M. Moochhala [et al] // *Biomaterials.* – 2008. – V. 29. – P. 4323–4332

81. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties / Shin-Yeu Ong, Wu Jian, M. Shabbir [et. al.] // *Biomaterials*. – 2008. – V. 29. – P. 4323–4332.
82. Development of chitosan sponges for buccal administration of insulin / A. Portero, D. Teijeiro-Osorio, M.J. Alonso [et al.] // *Carbohydr Polym*. – 2007. – V. 68. – P. 617–25.
83. Development of mucoadhesive thiolated chitosan nanoparticles for biomedical applications / A. Anitha, N. Deepa, K.P. Chennazhi [et al.] // *Carbohydr Polym*. – 2010.
84. Development of N, O-(carboxymethyl) chitosan/collagen matrixes as a wound dressing / R.N. Chen, G.M. Wang, C.H. Chen [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2006. – V. 7. – P. 1058–64.
85. Diabetes and burns: retrospective cohort study / B. McCampbell, N. Wasif, A. Rabbitts, L. Staiano-Coico [et al.] // *J. Burn Care Rehabil* / - 2002. – V. 23. – P. 157–166.
86. Donoghue A.M. Diphoterine for alkali chemical splashes to the skin at alumina refineries / A.M. Donoghue // *Int Soc Dermatol*. – 2010. – V. 49. – P. 894–900.
87. Effect of chitosan acetate bandage on wound healing in infected and noninfected wounds in mice / M. Burkatovskaya, A.P. Castano, T.N. Demidova-Rice [et al.] // *Wound Repair Regen*. – 2008. – V. 16. – P. 425–31.
88. Effect of chitosan film containing basic fibroblast growth factor on wound healing in genetically diabetic mice / K. Mizuno, K. Yamamura, K. Yano [et al.] // *Biomed Mater Res*. – 2003. – V. 64A. – P. 177–81.
89. Effects of different sterilization methods on the morphology, mechanical properties and cytotoxicity of chitosan membranes used as wound dressings / P.R. Marreco, P.L. Moreira, S.C. Genari [et al.] // *Biomed Mater Res B Appl Biomater*. - 2004. – V. 71B. – P. 268–77.
90. Electrospinning of carboxymethyl chitin/poly(vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications / Shalumon KT, Binulal NS, Selvamurugan N [et al.] // *Carbohydr Polym*. – 2009. – V. 77. – P. 863–9.

91. 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. – V. 341. – P. 2098–107.
92. Elias P.M. Therapeutic implications of a barrier-based pathogenesis of atopic dermatitis / P.M. Elias // *Ann Dermatol.* – 2010. – V. 22(3). – P. 245–254.
93. Epidemiology and risk factors for hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among burn patients / ML Kaiser, DJ Thompson, D Malinoski, C Lane, ME Cinat [et. al] // *J Burn Care Res.* – 2011. – V. 32. – P. 429–434.
94. Evaluation of a silver-releasing hydroalginate dressing in chronic wounds with signs of local infection / S. Meaume, D. Vallet, M.N. Morere // *Wound Care.* – 2005. – V. 14. – P. 411-9.
95. Experimental study of newly developed bilayer artificial skin / S. Suzuki, K. Matsuda, N. Isshiki // *Biomaterials.* - 1990. V. 11. – P. 356–60.
96. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing / Fwu-Long Mi, Shin-Shing Shyu, Yu-Bey Wu [et. al] // *Biomaterials.* – 2001. – V. 22. – P. 165 – 173
97. Fabrication of chitosan/silk fibroin composite nanofibers for wound-dressing applications / Z.X. Cai, X.M. Mo, K.H. Zhang [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2010. – V. 11. – P. 3529–39.
98. Fabrication, structure, and properties of chitin whisker-reinforced alginate nanocomposite fibers / A. Watthanaphanit, P. Supaphol, H. Tamura [et al] // *Appl Polym Sci.* – 2008. – V. 110. – P. 890–9.
99. Facile fabrication of bactericidal and antifouling switchable chitosan wound dressing through a 'click'-type interfacial reaction / X Wang, S Yuan, Y Guo [et. al] // *Colloids Surf B Biointerfaces.* – 2015. – V. 136. – P. 7 - 13.
100. Falanga V. The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation // V. Falanga // *Blood Cells Dis.* - 2004. – V. 32. – P. 88-94.

101. Faster healing and less pain in skin biopsy sites treated with an occlusive dressing / AJ Nemeth, WH Eaglstein, JR Taylor [et al] // Arch Dermatol. - 1991. – V. 127. – P. 1679 – 83
102. Flexible chitin films as potential wound-dressing materials: wound model studies / N.L.B.M. Yusof, A. Wee, L.Y. Lim [et al.] // Biomed Mater Res. - 2003. – V. 66A. – P. 224–32.
103. GAG-aug-mented polysaccharide hydrogel: A novel biocompatible and biodegradable material to support chondrogenesis / V. F. Scchriest, Y. J. Miao, C. Niyibizi [et al.] // Journal of Biomedical Material Research. - 2000. – V. 49(4). – P. 534–541.
104. Gallico, G. G., Skin substitutes/ G.G.Gallico // Clin. Pihst. Surg. – 1990. - V.17. P. 519-26.
105. Gel characterization and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan / J.H. Sung, M.R. Hwang, J.O. Kim [et al.] // Int J Pharm. – 2010. – V. 392 – P. 232–40.
106. Glycosaminoglycan hydrogel films as biointeractive dressings for wound healing / K.R. Kirker, Y. Luo, J.H. Nielson [et. al] // Biomaterials. – 2002. – V.23. – P. 3661–3671
107. Gottrup F, Outcomes in controlled and comparative studies on non-healing wounds: recommendations to improve the quality of evidence in wound management / Gottrup F., Apelqvist J., Price P. // J Woundcare. – 2010. – V. 19. – P. 239–268.
108. Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells / N.E. O'Connor, J.B. Mullikin, S.S. Banks [et al.] // Lancet. - 1981. – V. 317. – P. 75–8.
109. Han S.S. Topical formulations of water-soluble chitin as a wound healing assistantevaluation on open wounds using a rabbit ear model / S.S. Han // Fibers Polym. - 2005. – V. 6. – P. 219–23.
110. Healing of skin wounds with a chitosan-gelatin sponge loaded with tannins and platelet-rich plasma / B. Lu, T. Wang, Z. Li [et. al] // Int J Biol Macromol. – 2016. – V. 82. – P. 884 - 891.

111. Heyer K, Effectiveness of advanced versus conventional wound dressings on healing of chronic wounds: systematic review and meta-analysis / Heyer K., Augustin M., Protz K. // *Dermatology*. – 2013. – V. 226. – P. 172–184.
112. Hinman C.D. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds / C.D. Hinman, H.I. Maibach // *Nature*. – 1963. – V. 200. – P. 377- 8
113. Husain M.T. Report on evaluation of hydron as burn wound dressing / M.T. Husain, M. Akhtar, N. Akthar // *Burns*. – 1983. – V.9. – P.330 – 334
114. Hutchinson J.J. A prospective clinical trial of wound dressings to investigate the rate of infection under occlusion. Proceedings: advances in wound management / J.J. Hutchinson // London, England MacMillan. – 1993. –P. 93 - 96.
115. Huang Z.H. Preparation of a novel positively charged nanofiltration composite membrane incorporated with silver nanoparticles for pharmaceuticals and personal care product rejection and antibacterial properties / Huang Z.H., Yin Y.N. // *Water Sci Technol*. - 2016. – V. 73 (8) – P. 1910-1919.
116. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings / K. Murakami, H. Aoki, S. Nakamura [et al.] // *Biomaterials*. - 2010. – V. 31. – V. 83–90.
117. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies / GG Gauglitz, HC Korting, T Pavicic [et. al] // *Mol Med*. - 2011. – V. 17(1–2). – P. 113–125.
118. In vitro degradation behavior of freeze-dried carboxymethyl-chitin sponges processed by vacuum-heating and gamma irradiation / K. Muramatsu, S. Masuda, Y. Yoshihara [et al.] // *Polym Deg Stab*. – 2003. – V. 81. – P. 327–32.
119. Induction of drug specific antibody and the controlled release of drug by 6-Ocarboxymethyl- chitin / S. Tokura, Y. Miuray, M. Johmen [et. al] // *Journal of Controlled Release*. – 1994. – V. 28(1–3). – P. 235–241.
120. Influence of glycosaminoglycans on the collagen sponges component of a bilayer artificial skin / K. Matsuda, S. Suzuki, N. Isshiki [et al.] // *Biomaterials*. - 1990. – V. 11. – P. - 351–5.



121. Intermolecular interactions in electrospun collagenchitosan complex nanofibers / Z. Chen, X. Mo, C. He [et al.] // *Carbohydr Polym.* – 2008. – V. 72. – P. 410–8.
122. In-vitro degradation of the chitosan membranes under various syntheses conditions / OV Kalinkevich, MV Pogorelov, IM Babich [et. al] // *Biomed Khim.* – 2014. – V. 60(6). – P. 636 - 642.
123. Jones A.M. Are modern wound dressings a clinical and cost-effective alternative to the use of gauze? / A.M. Jones, L. San Miguel // *Wound Care.* - 2006. – V. 15. - P. 65- 9.
124. Juckett G. Management of keloids and hypertrophic scars / Juckett G., Hartman-Adams H. // *Am Fam Physician.* – 2009. – V. 80(3). – P. 253–260.
125. Walsh K. First aid management for chemical burns: Where is the evidence? / K. Walsh, K. Stiles, B. Dheansa // *Burns.* – 2016. – V.42 (1). P. 239 – 240.
126. Kohsari I. Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing bioactive silver nanoparticles / Kohsari I., Shariatinia Z., Pourmortazavi S.M. // *Carbohydr Polym.* – 2016. – V. 140. – P. 287 - 298.
127. Levine B. Autophagy in the pathogenesis of disease / B. Levine, G. Kroemer // *Cell.* – 2008. – V. 132. – P. 27–42.
128. Majno G. The healing hand: man and wound in the ancient world / G. Majno // Cambridge (Mass) Harvard University Press. - 1975.
129. Mason S. A multicentred cohort evaluation of a chitosan gelling fibre dressing / Mason S., Clarke C. // *Br J Nurs.*- 2015. – V. 24(17). – P. 868, 870-876.
130. May S. R. The future of skin banking / R.S.May, J. Butt // *Care Rehabil.* – 1990. – V.11. – P. 48-46.
131. Mechanism of action of PROMOGRAN, a protease modulating matrix, for the treatment of diabetic foot ulcers / B. Cullen, R. Smith, E. McCulloch [et al.] // *Wound Repair Regen* - 2002. – V. 10. – P. 16- 25.
132. Metalloproteinases as targets for anti-Inflammatory drugs / K.M.K. Bottomley, D. Bradshaw, J.S. Nixon // Basel: Birkhauser. - 1999.
133. Methylated 4-N,N dimethyl aminobenzyl N,O carboxymethyl chitosan as a new chitosan derivative: Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial

- activity / Rahmani S., Mohammadi Z., Amini M. [et. al] // Carbohydr Polym. – 2016. – V. 149. – P. 131-139.
134. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a trauma population: does colonization predict infection? / C.A. Croft, V.A. Mejia, D.E. Barker [et. al] // Am Surg. - 2009. – V. 75. – P. 458–461.
135. Mian M. Collagen as a pharmacological approach in wound healing / M. Mian, Beghe, E. Mian // Int J Tissue React. - 1992. –V. 14(Suppl). – P. 1 - 9.
136. Molecular affinity and permeability of different molecular weight chitosan membranes / X. G. Chen, L. Zheng, Z. Wang [et. al] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – V. 50(21). – P. 5915–5918.
137. Moriarty T.F. Corrosive chemicals: acids and alkali / T.F. Moriarty // Drug Ther. – 1979. – V. 3. – P. 89.
138. Motta G. The Kestrel wound product sourcebook / G. Motta // Bristol, Vermont Kestrel Health Information Inc. - 2005.
139. Muzzarelli, R. Chitosan Chemistry: Relevance to the Biomedical Sciences In Polysaccharides I / R. Muzzarelli, C. Muzzarelli // Springer: Berlin/Heidelberg. – 2005. - V. 186. – P. 151–209.
140. Neumann P.M. Gelatin-based sprayable foam as a skin substitute / P.M. Neumann, B. Zur, Y. Ehrenreich // J Biomed Mater Res. – 1981. – V.15. – P. 9 – 18
141. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications / O.M. Dragostin, S.K. Samal, M. Dash [et. al] // Carbohydr Polym. – 2016. – V. 141. – P. 28-40.
142. Norfloxacin-loaded chitosan sponges as wound dressing material / E.B. Denkbas, E. Ozturk, N. Ozdem [et al.] // J Biomater Appl – 2004. – V. 18. – P. 291–303.
143. Nosocomial infections in pediatric patients with burns / J. M. Weber, R. L. Sheridan, M. S. Pasternack [et al.] // Am. J. Infect. Control. – 1997. – V. 25. – P. 195-201.
144. Novel carboxymethyl chitin nanoparticles for cancer drug delivery applications / A. Dev, J.C. Mohan, V. Sreeja [et al.] // Carbohydr Polym. – 2010. – V. 79. – P. 273–9.

145. Novel carboxymethyl derivatives of chitin and chitosan materials and their biomedical applications / R. Jayakumar, M. Prabakaran, S.V. Nair [et al.] // *Prog Mater Sci.* - 2010. – V. 55. – P. 675–709.
146. Orig R A non-comparative evaluation of a chitosan gelling fibre / Orig R., Singleton J. // *Br J Nurs.* – 2016. – V. 25(3). – P. 162-170.
147. Overview of matrix metalloprotease modulation and growth factor protection in wound healing / L.G. Ovington // *Part 1. Ostomy Wound Manage.* – 2002. – V. 48(6 Suppl). – P. 3 - 7.
148. Ovington L. G. Advances in wound dressings / L. G. Ovington // *Clinics in Dermatology.* – 2007. –V. 25. – P. 33–38.
149. Ovington L.G. Hanging wet-to-dry dressings out to dry / L.G.Ovington // *Home Healthc Nurse.* - 2001. – V. 19, - P. 477 - 83.
150. Ovington L.G. Wound care products: how to choose / L.G. Ovington // *Adv Skin Wound Care.* – 2001. – V. 14. - P. 259- 64.
151. 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.
152. Plastic surgery: principles and practice / M.C. Robson, D.J. Smith Jr., Jurkiewicz, [et al.] // *St Louis: CV Mosby.* - 1990. – P. 1355–1410.
153. Pluronic F-127 gel preparation as an artificial skin in the treatment of third-degree burns in pigs / R.M. Nalbandian, R.L. Henry, K.W. Balko [et. al] // *J Biomed Mater Res.* – 1987. – V.21. – P.1135 – 1148
154. Prabakaran M. Chitosan derivatives as promising materials for controlled drug delivery / M. Prabakaran // *Biomater Appl.* – 2008. – V. 23. – P. 5-36.
155. Prabakaran M. Chitosan-based particles as controlled drug delivery systems / M. Prabakaran, J.F. Mano // *Drug Deliv.* – 2005. – V. 12. – P. 41–57.
156. Predicting survival in an elderly burn patient population / L.A. Wibbenmeyer, M. J. Amelon, L. J. Morgan [et al] // *Burns.* – 2012. – V. 27. – P. 583-590.
157. Preparation and characterization of novel  $\alpha$ -chitin-hydroxyapatite composite membranes for tissue engineering applications / K. Madhumathi, N.S. Binulal, H. Nagahama [et al.] // *Biol Macromol.* – 2009. – V. 44. – P. 1-5.

158. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitosan/cellulose blends / W. Yu-Bey, Y. Shu-Huei, M. Fwu-Long [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2004. – V. 57(7). – P. 435–440.
159. Preparation and evaluation of a novel wound dressing sheet comprised of  $\beta$ -glucan–chitosan complex / K. Kofuji, Y. Huang, K. Tsubaki [et al.] // *Reactive & Functional Polymers*. – 2010. – V. 70. – P. 784–789
160. Preparation of chitosan and its study on medicament / Lai, ling-yan, Suyuan-fen [et al.] // *Journal of Chinese Biochemical Drug*. – 1999. – V. 20(4). – P. 204–205.
161. Preparation of water-soluble chitosan/heparin complex and its application as wound healing accelerator / D.K. Kweon, S.B. Song, Y.Y. Park // *Biomaterials*. – 2003. – V. 24. – P. 1595–601.
162. Progression of wound pH during the course of healing in burns / J.R. Sharpe, S. Booth, K. Jubin [et. al] // *J Burn Care Res*. - 2013. – V. 34(3). – P.201–208.
163. Prompt long-term functional replacement of skin / I.V. Yannas, J.F. Burke, M. Warpehoski [et al.] // *Trans Am Sot Artif Int Organs*. – 1981. – V. 27. - P. 19 –23.
164. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in burns patients: risk factors and outcomes / P. Mahar, A.A. Padiglione, H. Cleland [et. al] // *Burns*. – 2010. – V.36. – P. 1228–1233.
165. Randolph May S. The Effects of Biological Wound Dressings on the healing process / S. Randolph May // *Clinical Materials*. – 1991. – V. 8. – P. 243-249
166. Recurrent life-threatening ventricular dysrhythmias associated with acute hydrofluoric acid ingestion: observations in one case and implications for mechanism of toxicity / R. Vohra, L.I. Velez, W. Rivera [et. al] // *Clin Toxicol*. – 2008. – V. 46. – P. 79–84.
167. Sekiguchi S. Molecular weight dependency of antimicrobial activity by chitosan oligomers / Sekiguchi S., K. Nishinari, E. Doi // *Food Hydrocolloids: Structures, properties, and functions*. New York, USA: Plenum Press. – 1994. – P. 71–76.
168. Shahidi F. Food application of chitin and chitosans / Shahidi, F, Arachchi, J. K. V. [et al] // *Trends in Food Science and Technology*. – 1999. –V. 10(2). – P. 37–51.

169. Sheridan R. L. Evaluating and managing burn wounds / R.L. Sheridan // *Dermatol. Nurs.* – 2000. – V. 12. – P. 17-18
170. Single step electrospinning of chitosan/poly(caprolactone) nanofibers using formic acid/acetone solvent mixture / K.T. Shalumon, K.H. Anulekha, C.M. Girish [et al.] // *Carbohydr polym.* – 2010. – V. 80. – P. 413–9.
171. Sponge-Like Dressings Based on the Association of Chitosan and Sericin for the Treatment of Chronic Skin Ulcers. II. Loading of the Hemoderivative Platelet Lysate / M. Mori, S. Rossi, F. Ferrari [et. al] // *Pharm Sci.* - 2016. – V. 105(3). – P. 1188-1195.
172. Steele K. Cadexomer iodine in the management of venous leg ulcers in general practice / K. Steele, G. Irwin, N. Dowde // *Practitioner.* - 1996. –V. - 230. P. 63-8.
173. 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.
174. Sudarshan NR Antibacterial action of chitosan / Sudarshan N. R., Hoover D. G., Knorr D. // *Food Biotechnology.* – 1992. – V. 6(3). – P. 257–272.
175. Suitability of gamma irradiated chitosan based membranes as matrix in drug release system / M.H. Casimiro, M.H. Gil, J.P. Leal [et al] // *Int J Pharm.* - 2010. – 395. – P. 142–6.
176. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials / R. Jayakumar, N.T. Nwe, S. Tokura [et. al] // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2007. – V. 40. – P. 175–181.
177. Sykes RA, Chemical burns: retrospective review / Sykes RA, Mani MM, Hiebert JM. // *The J Burn Care Rehab.* – 1986. – V. 7. – P. 343–347.
178. Ten year experience of burn, trauma, and combined burn/trauma injuries comparing outcome / J. M. Santaniello, F. A. Luchette, T. J. Esposito [et al] // *J. Trauma.* – 2004. – V. 57. – P. 696-700.
179. The effect of subcutaneous mesenchymal stem cell injection on stasis zone and apoptosis in an experimental burn model / S. Oksuz, E. Ulkur, O. Oncul [et. al] // *Plastic and Reconstructive Surgery.* – 2013. – V. 131. – P. 463–471.

180. The effects of rat mesenchymal stem cells on injury progression in a rat model / D.D. Singer, A.J. Singer, C. Gordon [et. al] // *Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine*. - 2013. – V. 20. – P. 398–402.
181. The role of oxidized regenerated cellulose/collagen in chronic wound repair and its potential mechanism of action / B. Cullen, P.W. Watt, C. Lundqvist [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol*. - 2002. – V. 34. – P. 1544- 56.
182. The role of poly(ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles / C. Luo, Y. Zhang, X. Zeng [et al.] // *J Colloid Interface Sci*. - 2005. – V. 288. – P. 444–8.
183. The roles of autophagy and apoptosis in burn wound progression in rats / Tan J.Q., Zhang H.H., Lei Z.J. [et. al] // *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*. – 2013. – V. 39. – P. 1551–1556.
184. The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients / S. Erol, U. Altoparlak, M.N. Akcay [et. al] // *Burns*. – 2004. – V. 30. – P. 660–664.
185. The use of a semioclusive dressing reduces epidermal inflammatory cytokine expression and mitigates dermal proliferation and inflammation in a rat incisional model / O. Kloeters, C. Schierle, A. Tandara [et. al] // *Wound Repair Regen*. – 2008. – V. 16: 4. – P. 568–575.
186. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns / N. Boucard, C. Vitona, D. Agayb [et al.] // *Biomaterials*. - 2007. – V. 28. – P. 3478–88.
187. Tomihata K. In vitro and in vivo degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives / K. Tomihata, Y. Ikada // *Biomaterials*. – 1997. – V. 18. – P. 567 - 573.
188. Treatment of secondary burn wound progression in contact burns—a systematic review of experimental approaches / D. Schmauss, F. Rezaeian, T. Finck [et. al] // *Journal of Burn Care & Research: Official Publication of the American Burn Association*. - 2015. – V. 36. – P. 176–189.

189. Uchida Y. Preparation of chitosan oligomers with purified chitosanase and its application / Uchida Y., Skjak-Braek G. // *Chitin and Chitosan: Sources chemistry, biochemistry, physical properties and applications*. Elsevier Applied Science. – 1989. – P. 373–382.
190. Vachon D.J. Novel sulfonated hydrogel composite with the ability to inhibit proteases and bacterial growth / D.J. Vachon, D.R. Yager // *Biomed Mater Res*. – 2006. – V. 76. – P. 35 - 43.
191. 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 [et al] // *Biomed Mater Res*. – 2008. – V. 84A. – P. 1006–17.
192. Willoughby D.A. Inducible enzymes in the inflammatory response / D.A. Willoughby, A. Tomlinson // Basel, CH: Birkhauser Verlag. - 1999.
193. Winter G.D. Formation of scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig / G.D.Winter // *Nature*. - 1962. – P. 193:293 -4.
194. Wu M.L. Survival after hypocalcemia, hypomagnesemia, hypokalemia and cardiac arrest following mild hydrofluoric acid burn / M.L. Wu, J.F. Deng, J.S. Fan // *Clin Toxicol* 2010. – V. 48. – P. 953–955.
195. Wysocki A. B. Evaluating and managing open skin wounds: colonization versus infection / A.B. Wysocki // *AACN Clin. Issues*. – 2002. – V. 13. – P. 382-397.
196. Zheng L. Y. Study of antimicrobial activity of chitosan with different molecular weight / Zheng L. Y., Zhu, J. F. // *Carbohydrate Polymers*. – 2003. – V. 54(4). – P. 527–530.
197. Zurada JM Topical treatments for hypertrophic scars / Zurada JM, Kriegel D, Davis IC // *J Am Acad Dermatol*. – 2006. – V. 55. – P. 1024–1031.

**ДОДАТОК А**  
**(обов'язковий)**



Таблиця 1

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин молодого віку контрольної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,78±0,09	1,64±0,04	1,21±0,04	1,02±0,02	0,54±0,01
Відносна площа некрозу, %	52,86±0,16	31,22±0,12	16,04±0,05	6,11±0,15	-
Грануляції, %	-	12,06±0,08	32,75±0,21	24,54±1,16	7,05±0,11
Відносна площа епітелізації, %	-	-	5,76±0,53	39,54±1,28	89,86±0,36

Таблиця 2

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин зрілого віку контрольної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,75±0,04	1,70±0,07	1,28±0,06	1,06±0,03	0,68±0,05
Відносна площа некрозу, %	54,41±0,23	43,56±0,17	17,49±0,11	8,23±0,89	-
Грануляції, %	-	9,13±0,34	29,87±0,85	22,83±0,69	-
Відносна площа епітелізації, %	-	-	2,44±0,06	34,21±1,41	75,86±2,36

Таблиця 3

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин старечого віку контрольної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,76±0,19	1,74±0,14	1,39±0,25	1,12±0,19	0,75±0,03
Відносна площа некрозу, %	58,17±2,36	51,21±1,23	26,23±1,07	13,09±0,65	-
Грануляції, %	-	3,69±0,14	21,82±1,24	29,11±1,15	9,56±0,35
Відносна площа епітелізації, %	-	-	-	24,95±2,19	68,44±2,48

Таблиця 4

## Параметри заживлення поверхні рани тварин контрольної серії

	Вікові групи		
	Молоді	Зрілі	Старечого віку
Початок епітелізації, дні	11,60±0,24	12,10±0,15	14,80±0,30
Повна епітелізація поверхні, дні	20,60±0,20	20,95±0,18	22,30±0,60
Швидкість заживлення рани, мм/добу	0,72±0,04	0,71±0,06	0,67±0,08

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин молодого віку контрольної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	98±4,67	104,2±5,2	48,1±2,31	29,9±1,12	11,8±0,53
<b>Нейтрофіли, %</b>	87,8±6,24	91,1±2,28	32,7±1,17	26,8±2,12	11,5±1,04
<b>Лімфоцити, %</b>	9,1±1,09	7,2±0,82	6,3±0,68	3,2±0,46	2,0±0,44
<b>Моноцити, %</b>	1,3±0,55	0,6±0,23	1,6±0,36	0,9±0,17	0,2±0,13
<b>Макрофаги, %</b>	-	2,1±0,22	14,8±0,57	21,9±1,11	11,4±0,46
<b>Полібласти, %</b>	-	0,7±0,13	7,4±0,28	10,3±0,55	11,2±0,38
<b>Фібробласти, %</b>	-	-	9,2±0,61	16,3±0,62	32,9±1,23
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	0,5±0,14	2,9±0,26	3,2±0,13	7,4±0,65
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини	Групи клітин	Пласти клітин

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин зрілого віку контрольної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	86,98±2,39	99,34±3,1	52,4±2,26	34,5±1,20	10,2±0,90
<b>Нейтрофіли, %</b>	78,45±1,19	89,7±2,00	51,5±3,10	43,3±2,21	13,4±0,53
<b>Лімфоцити, %</b>	2,26±0,44	6,6±0,46	6,1±0,44	4,4±0,37	1,8±0,26
<b>Моноцити, %</b>	2,6±0,33	1,3±0,25	1,9±0,23	1,1±0,75	0,8±0,17
<b>Макрофаги, %</b>	-	2,3±0,18	12,6±0,89	19,7±1,10	12,6±0,48
<b>Полібласти, %</b>	-	1,1±0,24	6,3±0,47	9,5±0,35	12,1±0,28
<b>Фібробласти, %</b>	-	-	7,5±0,38	14,2±1,61	27,8±1,02
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	-	2,2±0,33	3,6±1,28	6,8±0,40
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини	Групи клітин	Пласти клітин

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин старечого віку контрольної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	65,03±2,19	78,68±4,2	74,9±1,90	46,3±1,20	18,4±1,13
<b>Нейтрофіли, %</b>	65,12±3,32	71,6±2,26	74,8±2,37	58,7±2,18	24,6±2,09
<b>Лімфоцити, %</b>	5,1±0,89	5,4±0,47	4,8±0,55	4,0±0,42	2,6±0,44
<b>Моноцити, %</b>	3,3±0,21	3,6±0,35	2,3±0,36	1,6±0,33	1,0±0,25
<b>Макрофаги, %</b>	-	1,2±0,15	8,7±0,65	13,4±0,93	15,8±1,15
<b>Полібласти, %</b>	-	2,3±0,28	7,8±0,42	10,3±1,67	14,2±1,72
<b>Фібробласти, %</b>	-	-	4,7±0,30	10,8±0,86	20,5±1,29
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	-	1,8±0,26	3,0±0,11	4,2±0,31
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини	Групи клітин	Групи та пласти клітин

**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів молодого віку контрольної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
Відносна площа стромального набряку, %	25,6±1,65	23,11±2,04	15,64±1,23	8,65±1,06	-
Відносна площа судин дерми, %	8,5±1,12	8,2±0,24	7,14±0,45	6,87±0,59	6,74±0,45
Середній діаметр судин дерми, мкм	27,4±1,93	23,28±1,78	18,54±0,17	17,45±0,72	17,52±1,03
Відносна площа судин грануляційної тканини, %	-	3,93±0,45	14,83±0,83	17,15±1,21	11,64±1,15
Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм	-	11,4±1,04	15,65±0,44	16,03±0,91	16,94±1,08

**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів зрілого віку контрольної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
Відносна площа стромального набряку, %	23,1±2,13	26,7±1,34	13,9±0,67	9,12±0,76	-
Відносна площа судин дерми, %	8,91±1,05	8,74±0,92	7,32±0,59	6,93±1,08	6,84±0,52
Середній діаметр судин дерми, мкм	36,5±1,83	31,15±1,09	23,3±1,16	21,52±2,10	20,19±1,18
Відносна площа судин грануляційної тканини, %	-	4,07±0,34	13,6±1,69	18,23±0,82	14,32±1,10
Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм	-	14,5±0,41	17,2±1,13	18,22±0,77	19,38±0,93

**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів старечого віку контрольної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
<b>Відносна площа стромального набряку, %</b>	28,9±1,34	31,5±2,21	25,4±1,47	17,09±1,23	6,76±0,71
<b>Відносна площа судин дерми, %</b>	9,56±0,45	9,18±1,15	8,69±0,73	7,43±0,89	7,08±0,87
<b>Середній діаметр судин дерми, мкм</b>	39,6±1,25	38,03±2,29	31,42±1,56	27,31±1,34	25,65±1,27
<b>Відносна площа судин грануляційної тканини, %</b>	-	2,35±0,42	9,8±0,81	13,45±0,98	12,32±1,11
<b>Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм</b>	-	11,4±0,36	14,1±1,10	16,45±1,06	21,3±1,29

**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани щурів молодого віку**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	≤80	≤10 <sup>3</sup>	≤ 10 <sup>4</sup>	≤ 10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>
<b>Streptococcus sp.</b>	≤90	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>2</sup>	≤10 <sup>2</sup>	≤70
<b>Candida sp.</b>	≤50	≤10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>3</sup>	≤80
<b>Bacillus cereus</b>	0	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>2</sup>
<b>Aspergillus sp.</b>	≤60	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	≤90

**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани щурів зрілого віку**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	≤50	≤10 <sup>2</sup>	≤ 10 <sup>4</sup>	≤ 10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>2</sup>
<b>Streptococcus sp.</b>	≤70	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>2</sup>	≤60
<b>Candida sp.</b>	0	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>4</sup>	≤10 <sup>2</sup>	0
<b>Bacillus cereus</b>	0	≤10 <sup>2</sup>	≤10 <sup>3</sup>	≤10 <sup>2</sup>	≤40
<b>Aspergillus sp.</b>	0	≤10 <sup>2</sup>	≤10 <sup>4</sup>	≤90	≤60



**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани щурів старечого віку**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	$\leq 90$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$
<b>Streptococcus sp.</b>	$\leq 10^2$	$\leq 10^4$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
<b>Candida sp.</b>	0	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^3$	$\leq 70$
<b>Bacillus cereus</b>	$\leq 10^2$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^3$	$\leq 10^2$
<b>Aspergillus sp.</b>	$\leq 10^2$	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$	$\leq 10^2$
<b>E. coli</b>	0	$\leq 10^2$	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$	$\leq 10^2$

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин молодого віку експериментальної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,72±0,03 p=0.41	1,58±0,05 p=0.098	1,04±0,03 p=0.0068	0,85±0,07 p=0.041	0,32±0,03 p=0.001
Відносна площа некрозу, %	48,34±0,23 p=0.18	26,15±0,18 p=0.0001	12,43±0,08 p=0.001	3,34±0,05 p=0.001	-
Грануляції, %	-	18,35±0,11 p=0.001	35,12±1,15 p=0.07	20,39±1,29 p=0.037	-
Відносна площа епітелізації, %	-	-	11,34±0,13 p=0.0001	55,67±2,39 p=0.001	92,45±2,52 p=0.29

Таблиця 15

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин зрілого віку експериментальної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,75±0,05 p=0.37	1,63±0,14 p=0.089	1,11±0,04 p=0.04	0,80±0,12 p=0.061	0,42±0,08 p=0.02
Відносна площа некрозу, %	53,24±0,31 p=0.15	34,21±0,42 p=0.001	14,02±0,93 p=0.004	5,56±0,31 p=0.017	-
Грануляції, %	-	14,25±1,15 p=0.0016	31,22±1,31 p=0.09	18,56±0,82 p=0.0026	-
Відносна площа епітелізації, %	-	-	8,32±0,5 p=0.0001	47,83±1,22 p=0.0001	89,44±4,41 p=0.021

Таблиця 16

## Параметри планіметрії поверхні ран тварин старечого віку експериментальної серії

	Термін спостереження після травми, дні				
	1	3	7	14	21
Загальна площа дефекту, см <sup>2</sup>	1,74±0,12 p=0.38	1,70±0,16 p=0.068	1,24±0,27 p=0.69	1,02±0,12 p=0.66	0,54±0,06 p=0.01
Відносна площа некрозу, %	59,44±2,19 p=0.17	49,59±2,35 p=0.51	22,13±1,15 p=0.026	9,67±0,64 p=0.0038	-
Грануляції, %	-	4,35±0,18 p=0.016	26,23±0,32 p=0.0063	23,15±1,09 p=0.0037	3,25±0,13 p=0.0001
Відносна площа епітелізації, %	-	-	3,45±0,07	31,44±1,25 p=0.027	75,12±1,47 p=0.043

## Параметри заживлення поверхні рани тварин експериментальної серії

	Вікові групи		
	Молоді	Зрілі	Старечого віку
Початок епітелізації, дні	9,50±0,25 p=0.0001	11,20±0,10 p=0.0005	13,50±0,15 p=0.0031
Повна епітелізація поверхні, дні	18,45±0,72 p=0.0165	19,20±0,35 p=0.0012	21,80±0,20 p=0.4475
Швидкість заживлення рани, мм/добу	0,81±0,02 p=0.071	0,76±0,04 p=0.09	0,69±0,05 p=0.064

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин молодого віку експериментальної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	76±2,24 p=0.0017	89,6±3,4 p=0.04	32,7±7,17 p=0.068	18,6±5,15 p=0.057	9,4±1,46 p=0.15
<b>Нейтрофіли, %</b>	82,3±1,12 p=0.089	81,8±2,31 p=0.016	26,1±3,29 p=0.088	18,4±3,82 p=0.104	8,2±0,37 p=0.013
<b>Лімфоцити, %</b>	11,2±0,54 p=0.11	8,9±0,70 p=0.14	5,1±0,36 p=0.149	2,7±0,33 p=0.24	1,4±0,52 p=0.094
<b>Моноцити, %</b>	2,1±0,25 p=0.0088	1,4±0,56 p=0.0089	1,2±0,28 p=0.057	0,5±0,32 p=0.022	-
<b>Макрофаги, %</b>	-	6,5±0,67 p=0.0001	22,2±4,64 p=0.0031	23,8±0,92 p=0.14	12,6±2,63 p=0.087
<b>Полібласти, %</b>	-	1,5±0,44 p=0.0016	8,5±1,92 p=0.19	13,2±1,59 p=0.0018	14,5±3,12 p=0.027
<b>Фібробласти, %</b>	-	2,4±0,35 p=0.0001	17,4±1,23 p=0.0001	24,8±4,17 p=0.0074	39,2±5,15 p=0.015
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	1,4±0,56 p=0.0034	4,2±1,43 p=0.053	5,8±1,49 p=0.0017	9,6±2,68 p=0.079
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини	Групи клітин, пласти клітин	Пласти клітин

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин зрілого віку експериментальної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	80,32±3,21 p=0.12	82,15±3,4 p=0.0039	42,65±4,51 p=0.08	28,2±3,12 p=0.088	9,7±0,85 p=0.69
<b>Нейтрофіли, %</b>	74,12±2,43 p=0.14	76,5±3,26 p=0.0062	46,8±1,35 p=0.19	25,7±3,54 p=0.0018	10,8±0,49 p=0.0048
<b>Лімфоцити, %</b>	6,15±1,56 p=0.037	7,9±0,42 p=0.063	4,3±0,35 p=0.0095	3,1±0,36 p=0.03	0,8±0,13 p=0.0063
<b>Моноцити, %</b>	3,1±0,25 p=0.25	2,1±0,33 p=0.082	1,1±0,34 p=0.079	0,7±0,12 p=0.60	-
<b>Макрофаги, %</b>	-	6,4±1,30 p=0.0108	23,2±1,15 p=0.001	21,8±1,72 p=0.32	9,3±1,21 p=0.22
<b>Полібласти, %</b>	-	1,5±0,52 p=0.27	7,8±0,59 p=0.074	12,6±0,87 p=0.0079	15,8±2,37 p=0.19
<b>Фібробласти, %</b>	-	2,2±0,22 p=0.0001	16,4±2,14 p=0.0022	21,8±2,09 p=0.016	36,9±2,65 p=0.0094
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	1,2±0,15 p=0.0001	3,8±0,26 p=0.034	6,2±1,41 p=0.20	8,7±1,32 p=0.19
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини та групи клітин	Групи клітин та пласти клітин	Пласти клітин

## Клітинний склад цитологічних мазків-відбитків з поверхні рани тварин старечого віку експериментальної серії

	Термін спостереження, дні				
	1	3	7	14	21
<b>Кількість лейкоцитів у полі зору</b>	62,12±1,47 p=0.29	86,46±1,24 p=0.011	64,6±1,26 p=0.001	39,5±1,17 p=0.023	16,1±0,84 p=0.13
<b>Нейтрофіли, %</b>	69,50±2,10 p=0.14	81,2±2,41 p=0.015	70,3±3,13 p=0.087	41,2±1,10 p=0.001	18,2±0,58 p=0.001
<b>Лімфоцити, %</b>	5,5±0,34 p=0.23	5,8±0,42 p=0.069	3,9±0,54 p=0.017	3,3±0,35 p=0.0106	2,0±0,35 p=0.025
<b>Моноцити, %</b>	3,9±0,55 p=0.073	3,7±0,43 p=0.38	2,1±0,29 p=0.54	1,0±0,25 p=0.0053	0,85±0,12 p=0.21
<b>Макрофаги, %</b>	-	1,7±0,25 p=0.018	10,5±1,81 p=0.044	17,6±1,85 p=0.006	13,2±1,29 p=0.0042
<b>Полібласти, %</b>	-	3,3±0,30 p=0.001	9,2±1,32 p=0.032	13,7±1,32 p=0.029	17,8±2,37 p=0.013
<b>Фібробласти, %</b>	-	-	6,9±0,46 p=0.15	15,5±2,73 p=0.0024	24,8±2,79 p=0.0065
<b>Ендотеліоцити, %</b>	-	-	2,9±0,55 p=0.0013	3,8±1,27 p=0.15	4,9±0,76 p=0.068
<b>Епітеліоцити</b>	-		Поодинокі клітини	Групи клітин	Групи та пласти клітин

**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів молодого віку експериментальної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
<b>Відносна площа стромального набряку, %</b>	23,1±1,17 p=0.012	17,56±2,54 0.0019	10,92±2,79 p=0.0035	4,48±2,23 p=0.0019	-
<b>Відносна площа судин дерми, %</b>	8,6±0,59 p=0.28	7,84±0,53 p=0.16	6,35±0,51 p=0.017	6,76±0,44 p=0.68	6,68±0,47 p=0.25
<b>Середній діаметр судин дерми, мкм</b>	27,2±1,25 p=0.41	20,19±1,42 p=0.0077	17,87±0,39 p=0.0032	17,35±0,34 p=0.28	17,41±0,36 p=0.51
<b>Відносна площа судин грануляційної тканини, %</b>	-	4,75±0,38 p=0.0067	17,32±1,20 p=0.0019	14,25±0,74 p=0.005	9,43±1,51 p=0.068
<b>Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм</b>	-	13,5±0,47 p=0.0011	16,13±0,68 p=0.172	16,21±0,43 p=0.34	16,85±0,41 p=0.48

**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів зрілого віку експериментальної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
<b>Відносна площа стромального набряку, %</b>	22,7±1,36 p=0,33	20,1±5,17 p=0,012	10,3±2,74 p=0,01	6,62±1,58 p=0,0058	-
<b>Відносна площа судин дерми, %</b>	8,57±0,58 p=0,68	8,62±0,37 p=0,17	7,01±0,53 p=0,24	6,54±0,46 p=0,37	6,58±0,55 p=0,55
<b>Середній діаметр судин дерми, мкм</b>	35,1±1,54 p=0,51	28,43±3,7 p=0,079	20,1±3,69 p=0,11	20,32±0,84 p=0,52	19,79±0,84 p=0,065
<b>Відносна площа судин грануляційної тканини, %</b>	-	4,67±0,49 p=0,18	15,9±2,41 p=0,084	21,17±1,10 p=0,072	18,43±2,48 p=0,044
<b>Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм</b>	-	16,78±2,28 p=0,063	19,1±0,58 p=0,16	21,5±0,77 p=0,12	20,73±1,12 p=0,28



**Показники морфометрії гістологічних препаратів біоптатів рани  
щурів старечого віку експериментальної серії**

Показник	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
<b>Відносна площа стромального набряку, %</b>	26,5±1,13 p=0,20	28,2±1,38 0,23	20,1±0,67 p=0,0083	14,77±1,09 p=0,18	5,43±0,56 p=0,17
<b>Відносна площа судин дерми, %</b>	9,35±0,56 p=0,51	9,51±0,71 p=0,098	8,03±0,34 p=0,17	7,24±0,32 p=0,31	7,12±0,88 p=0,84
<b>Середній діаметр судин дерми, мкм</b>	38,9±1,16 p=0,40	38,23±1,44 p=0,65	29,15±3,94 p=0,84	25,44±2,11 p=0,38	24,13±2,98 p=0,75
<b>Відносна площа судин грануляційної тканини, %</b>	-	2,94±0,36 p=0,31	11,5±0,45 p=0,096	15,89±0,62 p=0,061	14,46±0,63 p=0,12
<b>Середній діаметр судин грануляційної тканини, мкм</b>	-	12,8±0,89 p=0,17	14,76±0,45 p=0,66	17,21±0,64 p=0,083	22,07±1,19 p=0,28

**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани щурів молодого віку експериментальної серії**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	$\leq 80$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
<b>Streptococcus sp.</b>	$\leq 90$	$\leq 90$	$\leq 10^2$	$\leq 80$	$\leq 60$
<b>Candida sp.</b>	0	$\leq 80$	$\leq 10^2$	$\leq 90$	0
<b>Bacillus cereus</b>	0	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 60$
<b>Aspergillus sp.</b>	0	0	0	0	0

**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани шурів зрілого віку експериментальної серії**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	$\leq 80$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 80$	$\leq 10^2$
<b>Streptococcus sp.</b>	$\leq 90$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 90$	$\leq 70$
<b>Candida sp.</b>	0	0	$\leq 10^2$	$\leq 70$	0
<b>Bacillus cereus</b>	0	0	$\leq 90$	0	0
<b>Aspergillus sp.</b>	0	0	0	0	0

**Кількісний та якісний склад мікрофлори  
рани щурів старечого віку експериментальної серії**

Назва мікроорганізму	Термін дослідження, доба				
	1	3	7	14	21
	кількість КУО/мл змива з тампона				
<b>Staphylococcus sp.</b>	$\leq 60$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
<b>Streptococcus sp.</b>	$\leq 90$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 90$	$\leq 10^2$
<b>Candida sp.</b>	0	0	$\leq 90$	$\leq 80$	0
<b>Bacillus cereus</b>	$\leq 70$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 70$	$\leq 70$
<b>Aspergillus sp.</b>	0	$\leq 70$	$\leq 90$	$\leq 80$	0