

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

УКПШ

№ держреєстрації 0115U001712

Інв.№

Міністерство освіти і науки України  
Сумський державний університет  
(СумДУ)  
40007, м.Суми, вул.Римського-Корсакова, 2; тел.330172

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор СумДУ  
д-р фіз.-мат. наук, проф.  
\_\_\_\_\_ А.М. Черноус

ЗВІТ  
ПРО НАУКОВО–ДОСЛІДНУ РОБОТУ

**МЕДИКО-БІОЛОГІЧНІ ТА ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ  
БІОМАТЕРІАЛІВ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ  
(остаточний)**

Науковий керівник НДР  
д-р мед.наук, доц.

\_\_\_\_\_

М.В. Погорелов

2017

Рукопис закінчено \_\_ грудня 2017 р.

Результати роботи розглянуто науковою радою СумДУ протокол від \_\_ \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.  
№ \_\_

**СПИСОК АВТОРІВ**

Керівник теми, проф., д.мед.	_____ ___.12.2017 р.	М. Погорєлов (заг. редакція, розділ 1, висновки)
к.мед.н.	_____ ___.12.2017 р.	О. Олешко (редакція, розділ 2)
к.мед.н.	_____ ___.12.2017 р.	В. Корнієнко (розділ 1, 3)
н.с	_____ ___.12.2017 р.	В. Дейнека (розділ 3)
студент	_____ ___.12.2017 р.	І. Любчак (розділ 2)
к.мед.н., доц.	_____ ___.12.2017 р.	В. Голубнича (розділ 2)

## РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 87 с., 20 рис., 1 табл., 269 джерел.

ВІК, ОПІКОВА РАНА, РЕПАРАТИВНА РЕГЕНЕРАЦІЯ, ХІТОЗАН, ШКІРА.

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

**Мета роботи** – вивчення морфофункціональних особливостей ділянки шкіри після опікової травми та використання для загоєння рани хітозанових плівок у віковому аспекті.

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

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

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

## ЗМІСТ

Вступ .....	5
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1 Основні принципи та матеріали для місцевого лікування опікових ушкоджень шкіри .....	8
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	18
3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	25
Висновки .....	57
Перелік джерел посилань .....	59

## ВСТУП

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

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

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

властивостями сприяє виникненню полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів (Кризина П. С., 2011; Krishna S. Vyas, Henry C. Vasconez, 2014).

Останніми десятиріччями в практику впроваджені нові перев'язувальні матеріали, засоби та покриття як природного, так і синтетичного походження (Moustafa M. G. et al., 2009; Волков К. С., Чабан Г. П., Федонюк Л. Я., 2012; T. Hnin-Ei, Z. Mohd Hanif, N. Shiow-Fern, 2012). Зросла кількість досліджень щодо використання хітозану, який є похідним природного полімеру хітину, для створення засобів медичного призначення щодо лікування ушкоджень шкіри (Harish Prashanth K. V., Tharanathan R. N., 2007; Honarkar H., Barikani M., 2009). При його використанні необхідно відзначити такі позитивні моменти, як біосумісність, здатність до біодеградації з утворенням нешкідливих мономерів (Francesko A., Tzanov T., 2011), відсутність місцевої подразнювальної, алергенної та токсичної дій, атравматичність (Chen R. N. et al., 2006; Watthanaphanit A. et al., 2008). Хітозанові плівки добре моделюються на різних ділянках тіла, забезпечують нормальний парообмін у рані, сорбують надлишок ексудату (Wang C. S. et al., 2008), виявляють пролонговану антимікробну та знеболювальну дії (Shin-Yeu Ong et al., 2008), створюють вологе середовище, оптимальне для міграції фібробластів і макрофагів, що продукують фактори росту, сприяючи тим самим прискоренню ангіогенезу, фібринолізу та процесу ранового загоєння, а також запобігають утворенню рубців (Boucard N. et al., 2007). Багатьма дослідниками вивчався як стимулювальний вплив мембран на основі хітозану на процес регенерації *in vivo*, так і здатність хітозанових матеріалів обумовлювати проліферацію та життєздатність клітин *in vitro* (Rodrigues A. P., Genari S. C., Paulo N. M., 2010).

Висока частота термічних уражень у побуті та виробництві, поширеність їх серед дитячого населення, тяжкий та тривалий перебіг опікової травми, недостатня ефективність існуючих методів терапії, великий відсоток ускладнень та інвалідизації постраждалих обумовлюють актуальність проблеми термічних уражень та визначають необхідність подальшого пошуку нових і вдосконалення

відомих засобів і методів лікування, які б стимулювали репаративні процеси в ранах.

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

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

**Мета роботи** – вивчення морфофункціональних особливостей ділянки шкіри після опікової травми та використання для загоєння рани хітозанових плівок у віковому аспекті.

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

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

## 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Основні принципи та матеріали для місцевого лікування опікових ушкоджень шкіри

Однією з основних проблем лікування постраждалих від опіків є повнота відновлення шкірних покривів, утрачених у результаті термічної травми, від чого залежать характер перебігу та результат періоду реконвалесценції. Своєчасне й патогенетично обґрунтоване місцеве лікування відіграє значну роль у забезпеченні неускладненого перебігу опіків. Якщо у хворих із глибокими опіками основу місцевого лікування складають шкірно-пластичні операції, то лікування поверхневих і граничних опіків проводиться в основному з використанням консервативних методів.

Використання лікарських засобів для місцевого лікування опіків застосовувалося споконвіку. Але з часом змінювалися погляди на перебіг ранового процесу, з'являлися нові лікарські препарати, удосконалювалися методи лікування. Розширення пізнань про закономірності загоєння ран призвело до того, що ведення опіків стали проводити диференційовано залежно від глибини та локалізації ураження, стадії ранового процесу, віку постраждалого та від ряду інших факторів із послідовним використанням медикаментозних препаратів із різним механізмом дії. За сучасними уявленнями, визначальним принципом патогенетичної спрямованості лікувальних заходів є доведений факт спільності біологічних законів перебігу ранового процесу будь-якої етіології та локалізації. Згідно з цим рановий процес можна подати у вигляді таких фаз: запалення, регенерації та реорганізації рубця з епітелізацією. Отже, нові досягнення в лікуванні опікових ран привели до диференційованого підходу щодо використання лікувальних засобів залежно від конкретної фази перебігу ранового процесу. Саме це, об'єктивно обґрунтоване, прагнення обумовлює створення нових препаратів, що поєднують у собі різні властивості, необхідні для лікування



ран з урахуванням як глибини ураження, так і фази розвитку ранового процесу. Так, у на I стадії ранового процесу використання засобів медичного призначення повинно привести до пригнічення інфекції в рані, нормалізації місцевого гомеостазу (ліквідація гіперемії, ацидозу, надлишкового протеолізу) та активації відторгнення некротичних тканин, адсорбції токсичного ексудату рани, тобто продуктів мікробного і тканинного розпаду. На II і III стадіях препарати повинні запобігати вторинній контамінації з одночасним обмеженням зростання в ній «залишкової» мікрофлори, надавати протекторної дії щодо регенеруючих тканин від механічних пошкоджень, висушування і т. д. Обов'язковими на даних стадіях є активація обмінних процесів у тканинах та поліпшення регіонального кровотоку, а також забезпечення спрямованої стимуляції репаративних процесів у ранах.

Препарати, що використовують для місцевого лікування ран, можна розділити наступні групи:

- 1) антибактеріальні препарати – розчини речовин неорганічного та природного походження (як тваринного, так і мікробіологічного, а також із рослинної сировини):
  - колоїдні розчини, рідкі полімери;
  - м'які лікарські форми (мазеподібні, креми, плівкотвірні аерозолі, пінні препарати в аерозольній упаковці, плівки з антисептиками);
  - тверді лікарські форми для зовнішнього застосування (порошки та гранули);
- 2) препарати з протизапальною дією (антиоксиданти, препарати з гіперосмолярною дією, сорбенти);
- 3) препарати, що використовують для очищення ран від змертвілих тканин (кератолітичні мазі, ферментні препарати і препарати, що підсилюють приплив до ран фагоцитів);
- 4) препарати гемостатичної дії, що за характером дії можна поділити на специфічні й неспецифічні, за походженням – на біологічні та синтетичні, за лікарськими формами (тампони, губки, гелі, плівки, порошки, аерозолі, розчини).

Незважаючи на розроблення нових сучасних методів терапії, таких як лазеро-, магнітотерапія, гіпербарична оксигенація, використання клітинних культур та ін., використання пов'язок є основним методом місцевого лікування ран завдяки його доступності, простоті застосування та економічній вигоді, а також актуальності проблеми заміщення дефектів шкірного покриву у разі глибоких великих опіків, коли виконання аутодермопластики ускладнене через дефіцит донорських ресурсів шкіри. З літературних джерел відомо, що первинне очищення ран із подальшим використанням сучасних ранових покриттів на тлі медикаментозної терапії дозволяє мінімізувати загибель тканин паранекротичної зони опікової рани та утворення некротичного струпу, захищає рану від інфікування й забезпечує тим самим неускладнений перебіг ранового процесу.

Лікувальні перев'язувальні засоби на сьогодні представлені надзвичайно широко, значна частина з яких має медикаментозне просочення. Залежно від цільового призначення перев'язувального матеріалу просочення може складатися з одного або декількох компонентів, що належать до різних класів медикаментозних препаратів. Пов'язки можуть бути одношаровими або багатшаровими. У разі багатшарових вони можуть бути виконані з одного чи різних матеріалів. Перев'язувальні матеріали можна умовно поділити на фіксуючі та лікувальні. До найбільш простих і широко використовуваних перев'язувальних засобів, що виконують як лікувальні, так і фіксуючі функції, відносять бинти й марлю.

Останніми роками в практику впроваджені нові перев'язувальні матеріали, засоби та покриття для лікування ран природного походження – різні варіанти консервованої шкіри, амніотична мембрана та препарати дерми; пов'язки на основі матеріалів тваринного походження – покриття на основі колагену, «культивована шкіра», одержувана з клітин епітелію пацієнта на колагені; матеріали рослинного походження – ватні пов'язки на основі целюлози, віскози або їх поєднання; пов'язки на основі синтетичних матеріалів – із пінополіуретану, полівінілхлориду, нейлону, силіконових і поліамідних плівок та інших

полімерних матеріалів; засоби на основі матеріалів різного походження – як правило, багат шарові, сорбційно-активним шаром їх зазвичай є целюлозна складова.

Своєрідною лікарською формою є ранові покриття. Останнім часом з'явилося багато зразків ранових покриттів, що відрізняються за хімічним складом основи та доданими до них лікарськими речовинами. На цей час у клінічній практиці використовують понад 300 видів ранових покриттів. За стійкістю покриття можна поділити на біодеградуючі (що розсмоктуються) та біоінертні. Як правило, біодеградуючі покриття виготовляють із природних полімерів (желатину, колагену, хітозану), а біоінертні – із синтетичних матеріалів. За формою виготовлення і способом застосування можна виділити такі варіанти покриттів: губки, гелеутворюючі покриття, плівкові покриття та покриття, що формуються при розпиленні композиції у вигляді аерозолю, а також комбіновані покриття.

За останнє століття наше розуміння процесу загоєння ран зазнало значних змін. До середини 1900-х років існувало переконання, що рани загоюються швидше, якщо вони сухі й залишаються відкритими. Традиційні перев'язувальні матеріали, зокрема вата та марля, що використовувалися для поглинання виділень із рани, підтримували її сухість та запобігали вторгненню бактерій. У 1962 році G. D. Winter установив значення мікросередовища, що створюється пов'язкою, для ранового загоєння. У своїх дослідженнях він показав, що у вологому середовищі ранової поверхні спостерігається посилення міграції епітеліальних клітин, а також описав ідеальну ранову пов'язку, яка забезпечує газообмін між рановою поверхнею та атмосферою. Таким чином, загоєння ран відбувається більш швидко й успішно, коли епітеліальні клітини можуть переміщатися без перешкоджень, якщо рана зберігається вологою, одержує адекватну циркуляцію кисню, щоб полегшити регенерацію клітин і тканин, а також залишається захищеною від бактеріальних інвазій, що було підтверджено іншими дослідниками. Вологе середовище запобігає додатковій втраті тканинами вологи, сприяє активності літичних ферментів, що очищують рану від некротичних тканин на початку

процесу загоєння. Міграція кератиноцитів полегшується у вологому середовищі, що забезпечує надійний епідермальний бар'єр. Оклюзія рани прискорює запальну та проліферативну фази ранового загоєння, що, ймовірно, пов'язано з модифікацією запального процесу, прискоренням ремоделювання колагену й контракції рани. Тонкий баланс кисню повинен підтримуватися для оптимального загоєння рани, хоча клітини потребують кисень для такої діяльності, як міграція і мітоз, гіпоксія насправді прискорює процес ангіогенезу. Крім того, епідермальна міграція клітин інгібується при високих рівнях кисню. Однак, необхідно відзначити, що формування рогового шару затримується під оклюзійними пов'язками як результат втрати трансепідермальної води. Доведено, що саме напівпроникні оклюзійні пов'язки здатні створити відповідне напруження кисню, щоб загоєння ран відбувалося швидко. Рідина з гострих шкірних ран містить багато ендогенних факторів, що мають вирішальне значення для процесу загоєння рани. Збереження цієї рідини у рані, утримання активних сполук на поверхні рани, а також випаровування надлишкової водяної пари приводять до пришвидшення загоєння ран унаслідок збільшення концентрацій місцевих факторів росту в рановому ексудаті та якості загоєння ран, утворення рубців є мінімальним завдяки сприянню міграції кератиноцитів.

Незважаючи на те, що існує безліч способів, методів та актуальних протимікробних препаратів для лікування інфекції, однак такі факти, як високий рівень опору бактерій, знижена імунологічна реактивність мікроорганізму, потребують подальшого вивчення та розроблення нових методів і матеріалів для місцевого лікування опікових ран. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми як альтернатива антибіотикам є застосування ранових покриттів для регулювання рановою інфекцією, зокрема із використанням інших протимікробних препаратів.

Базуючись на сучасних поглядах оптимізації процесу ранового загоєння, можна виділити такі вимоги до ранових покриттів: створення оптимального мікросередовища для загоєння ран; високу абсорбційну спроможність щодо ранового ексудату; здатність запобігати проникненню мікроорганізмів; достатню

проникність для газів (кисню, вуглекислоти) для забезпечення проходження репаративних процесів; проникність для парів води, але виключаючи висушування дна рани; еластичність, можливість моделювати поверхні зі складним рельєфом; відсутність пірогенної, антигенної й токсичної дій; відсутність місцевої подразнювальної та алергенної дій; наявність антимікробних властивостей і сприяння загоєнню ран. Крім того, досить бажані такі характеристики, як прозорість, що обумовлює можливість спостереження за раною; наявність анестезуючої, гемостатичної дій та можливість бути носієм лікарських речовин; зручність застосування для медичного персоналу та хворого; технологічна доступність – вартість, складність конструкції й технології виробництва, стійкість до стерилізації.

Сьогодні з'явилася можливість створити покриття, що прилипають, але атравматичні, сорбуючі покриття на основі синтетичних (поліуретан, силіконовий каучук) і природних (альгінати, хітозан, желатин та колаген) полімерів. Такі пов'язки не потрібно буде видаляти – полімер повністю розсмоктується з часом у результаті або повільного розчинення в ексудаті, або біодеструкції. В основі здатності покриттів до розсмоктування лежить їх водо- і плазморозчинність. Загальною властивістю перелічених матеріалів є їх гідрофільність. Причому вони надають не лише вираженого поглинального ефекту, а й фіксують мікроорганізми рани у своїй гелевій структурі, підтримують вологість і тим самим сприяють зростанню рануляцій. Завдяки пористості вони забезпечують необхідний для загоєння ран газо- та парообмін. Однак покриття цього типу не чинять прямої антимікробної дії і недостатньо механічно міцні.

Останніми десятиріччями зросла кількість досліджень щодо використання хітозану для створення різних засобів медичного призначення для лікування ушкоджень шкіри. Хітозан є лінійним полісахаридом, який одержують за допомогою деацетилювання хітину, структурного біополімеру, наявного в екзоскелеті ракоподібних та молюсків, а також клітинній стінці грибків, він є другим за поширенням природним полісахаридом після целюлози. Із хітину

різного походження шляхом гідролізу можна одержати хітозан або його солі. Структурна одиниця (глікозидний залишок) полімеру хітозану включає одну аміногрупу та дві гідроксильні групи. Таким чином, хітозан – це кополімер, що містить два типи повторюваних одиниць, N-ацетил-D-глюкозо-2-амін і D-глюкозо-2-амін, зв'язані (1→4) β-глікозидними зв'язками. Активні аміногрупи молекули хітозану є місцями взаємодії з різним оточенням у м'яких реакційних умовах завдяки катіонним властивостям. Саме це дає можливість хітозану утворювати численні водневі зв'язки з органічними і неорганічними речовинами. Крім того, наявність аміногруп дозволяє змінювати хімічну модифікацію молекулярної будови хітозану.

Молекулярна маса (MW) хітозану (CS) залежно від джерела та процесу одержання знаходиться в інтервалі від 300 до 1000 кДа, ступінь деацетилювання (DD) – від 30 до 95 %. Чим вищий ступінь DD, тим більше в полімері протонованих аміногруп і відповідно більша величина заряду на поверхні макромолекули. У кристалічній формі хітозан є нерозчинним у водних розчинах із рН > 7, тоді як у розбавлених кислотах (рН < 6) за рахунок протонування NH<sub>2</sub>-груп стає розчинним. Саме катіонна природа CS забезпечує електростатичні взаємодії з мультивалентними аніонними лінійними полісахаридами (глікозаміноглікани (GAG), протеоглікани та ін.). Цей фактор є надзвичайно важливим, оскільки велика кількість ростових факторів та інших протеїнів зв'язана з GAG, і саме тому утворення комплексів GAG – CS сприяє утриманню і накопиченню цих необхідних біополімерів. Розчинність в кислих розчинах і здатність до агрегації з поліаніонними сполуками надає хітозану відмінних гелеутворювальних властивостей.

Поряд з унікальними біологічними властивостями – біосумісністю, здатністю до біологічного розкладання на нешкідливі продукти, нетоксичністю, фізіологічною інертністю, афінністю до білків, гемостатичною, знеболювальною, антимікробною, гіполіпідемічною, протипухлинною, імуностимулювальною та

антиоксидантною властивостями – хітин і хітозан є екологічно чистими, безпечними для людини та навколишнього середовища речовинами.

Хітин і хітозан можуть бути легко перероблені на гідрогелі, мембрани, нановолокна, мікро/наночастинки, скафолди. У літературі є відомості про культивування фібробластів людини і ссавців на підкладках із хітину і хітозану, на хітозанових і хітозан-колагенових скафолдах, а також гібридних хітозан-полілактидних наноструктурованих матриксах.

Останніми роками отримані захисні ранові покриття з хітозану, що являють собою напівпроникну біологічну мембрану. Були запропоновані різні методики одержання хітозанових плівок під час розчинення хітозану різної молекулярної маси в розчинах ацетатної кислоти, молочної, хлороводневої кислот та встановлено, що фізико-механічні властивості хітозанових плівок змінюються залежно від MW хітозану та концентрації певного розчинника. Багатьма авторами досліджувався вплив DD вихідного хітозану на структуру та властивості плівок. Хітозан із вищим ступенем деацетилювання містить більшу кількість аміногруп, які полегшують утворення водневих зв'язків. У праці була встановлена залежність деформаційно-міцнісних характеристик плівок хітозану від MW та DD. Так, збільшення вмісту низькомолекулярної фракції у зразках хітозану призводило до значного зниження міцності плівок. У праці під час дослідження мембран, виготовлених з хітозану із DD 75 %, 87 % і 96 %, було виявлено, що мембрани, які отримані з CS з більш високим ступенем деацетилювання, виявили вищу міцність та більше відносне подовження при розриві.

Одними з найважливіших показників хітозанових плівок, з огляду на застосування, є їх вологопоглинальна властивість та відповідно здатність плівок до сорбції ексудату з ран, їх волого- та газопроникність, а також транспортні властивості щодо лікарських препаратів. Вивчаючи вплив різних факторів, таких як концентрація полімеру в розчині, товщина плівки і спосіб її

модифікації, а також наявність іншого полімеру, на вологопоглинальні властивості хітозанових плівок, було встановлено, що найбільш значущими факторами, які визначають вологопоглинальну здатність плівок хітозану, є їх товщина, обробка поверхнево-активними речовинами, термічна модифікація, а також додавання іншого полімеру.

Крім здатності хітозанових плівок моделюватися на різних ділянках тіла та запобігати вторинному інфікуванню ділянки ушкодження, важливими їх властивостями є підтримання оптимального паро обміну в рані завдяки повітро- і паропроникності; забезпечення своєчасного гемостазу, адсорбуючи надлишок вологи та водночас запобігаючи висиханню рани, створення вологого середовища, сприятливого для клітинної міграції, забезпечуючи в кінцевому підсумку неускладнений перебіг ранового загоєння з мінімальними ознаками формування рубцевої тканини. Необхідно зазначити, що біологічні покриття на основі хітозану виявляють антибактеріальну та антигрибкову активність, здатні стимулювати імунну систему через активацію макрофагів, фібробластів, систему комплементу та активацію міграції імунокомпетентних клітин. Деякі дослідники повідомляють про прискорення епітелізації через стимуляцію хітозаном клітинної проліферації.

Більше 1000 статей були виявлені при застосуванні «хітозану» і "антимікробної активності" як ключових слів для бібліографічних досліджень з використанням бази даних SCOPUS®, більше ніж 700 з яких опубліковані після 2010 року, демонструючи високий рівень зацікавленості до хітозану як біополімеру та протимікробного агента.

Різні механізми були запропоновані для обґрунтування антимікробної дії хітину, хітозану та їх похідних. Перший механізм – усунення бактерій з поверхні опікової рани за допомогою хітозанових плівок як механічного бар'єра між ранами та навколишнім середовищем, що дозволяє виключити можливість мікробної контамінації й сформувати оптимальне ранове мікросередовище.



Адсорбуючи надлишки ексудату, хітозанова мембрана може нормалізувати ранове мікросередовище та зменшити мікробне навантаження. На думку деяких авторів, низькомолекулярні полімери хітозану мають хемотаксичні властивості до лейкоцитів і макрофагів. Вони можуть стимулювати їх міграцію до місця рани й утворювати таким чином оптимальні умови для очищення ран. Крім того, хітозан може стимулювати відтворення клітин безпосередньо у тканинах із подальшою трансформацією їх у макрофаги.

Досліджуючи механізми антибактеріальної властивості хітозану, встановлено, що хітозан як полікатион утворює електростатичні зв'язки з аніонними молекулами на поверхні клітини і тим самим впливає на їх проникну здатність. Крім того, хітозан зв'язується з негативно зарядженими групами ДНК та інгібує синтез РНК. Хітозан також діє як хелатуючий агент, що селективно зв'язується з металами і, отже, пригнічує вироблення токсинів і ріст мікробів. Антибактеріальна активність хітозану залежить також від його фізико-хімічних властивостей (MW, гідрофільні/гідрофобні властивості, водорозчинність, густина позитивного заряду, DD, рН, а також комбінації з іншими антимікробними агентами). Більш деацетильований хітозан має вираженішу протимікробну здатність, ніж хітозан із високою часткою ацетильованих аміногруп, через підвищену розчинність та високу густина заряду.

Сучасний стан вчення про рани припускає використання для місцевого лікування засоби, які володіли б комплексним впливом на процеси загоєння ран. Переваги при цьому мають препарати, що володіють регулюючим впливом на клітинні механізми ранового процесу, створюючи оптимальне середовище для неускладненого перебігу процесу ранового загоєння, та запобігають мікробній контамінації та розвитку інфекції в рані.

## 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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

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

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

Згідно з метою та завданнями дослідження лабораторні тварини були поділені на контрольну (90 тварин) та експериментальну (90 тварин) серії, в кожній з яких виділили по 3 групи з 30 тварин відповідного віку (табл. 2.1). Щурам експериментальної та контрольної серій проводилося моделювання опікової рани ІІІб ступеня.

**Спосіб моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам.** Проведення моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам з урахуванням вимог стандартизації та з дотриманням заданих критеріїв площі та глибини ранових дефектів здійснювалося відповідно до методики експериментальної моделі опікової травми (патент на корисну

модель № 89985 «Спосіб моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам» від 12.05.2014 р.).

Таблиця 2.1 – Розподіл тварин за серіями

Серія тварин		Термін забору матеріалу після завдання травми				
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба
Контроль	молоді	6	6	6	6	6
	зрілі	6	6	6	6	6
	старі	6	6	6	6	6
Експеримент	молоді	6	6	6	6	6
	зрілі	6	6	6	6	6
	старі	6	6	6	6	6

Під ін'єкційним кетаміновим наркозом (10 мг на 1 кг маси тварини внутрішньом'язово) лабораторну тварину 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 бактеріальної контамінації. Контактно впливаючи на шкіру вістря паяльника Goot PX-601, що закінчується металевою пластинкою площею діаметром 1,5 см, упродовж 2 секунд після досягнення потрібного режиму температури (250 °C), моделювали опікову рану всіх шарів шкіри до підшкірної клітковини (опік IIIб ступеня) з площею, що дорівнює площі металевої пластинки (1,76 см<sup>2</sup>). Температура та експозиція підібрані емпірично. Контроль глибини ураження здійснювався гістологічно в день виведення тварини з експерименту. Опікова травма шкіри, одержана вищеописаним способом, супроводжуються розвитком сухого коагуляційного некрозу шкіри без відмирання поверхневого шару м'язів (рис. 2.1 а).

Тваринам експериментальної серії для місцевого лікування ран використовували інноваційні хітозанові покриття діаметром  $(20 \pm 0,1)$  мм, які попередньо стерилізували у 70 % етиловому спирті впродовж 1 години за кімнатної температури (рис. 2.1 б). У контрольній серії загоєння рани відбувалося з використанням стерильних марлевих пов'язок. Заміну хітозанових плівок та марлевих пов'язок проводили щоденно після стандартної обробки рани, починаючи з 1-ї доби після моделювання опіку. Лабораторних щурів щодня оглядали, відмічаючи їх загальний стан, активність, стан рани та прилеглих тканин.

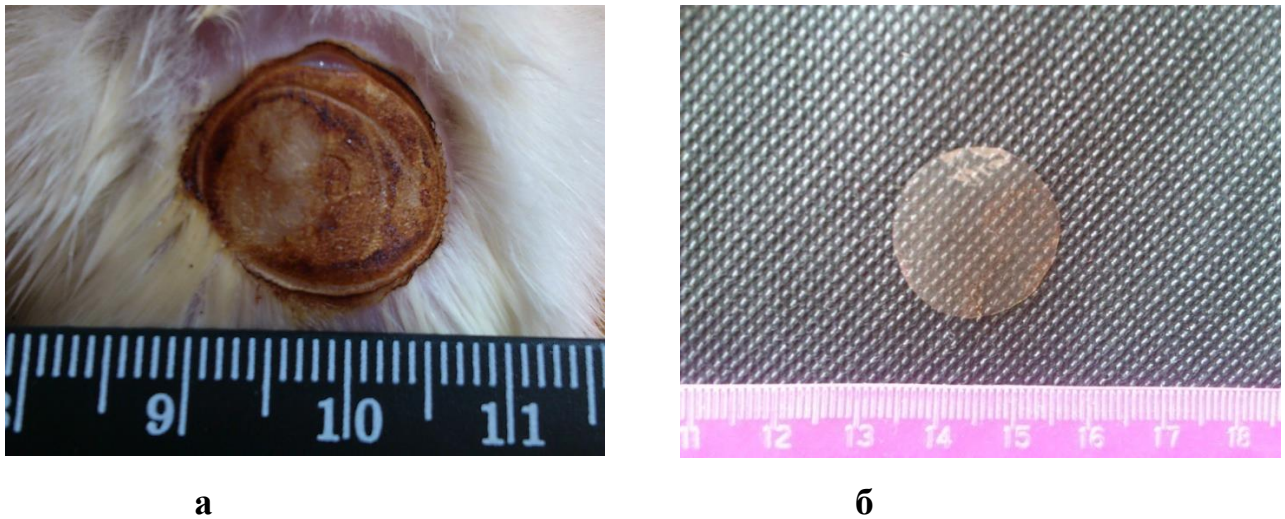


Рисунок. 2.1 – Зовнішній вигляд ділянки термічного ураження шкіри щура (а) та зразок хітозанового покриття для лікування дефектів шкіри (б)

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

Матеріал для покриття дефекту одержували в Інституті прикладної фізики НАН України. Для отримання гелю хітозану використовували хітозан (ЗАТ «Біопрогрес», Росія) з молекулярною масою 700 кДа та ступенем

деацетилювання 87 %, одержаний із панцирів камчатських крабів без будь-яких домішок (за результатами мікроскопічних досліджень – XRD). Готували 2 % розчин хітозану в 0,5 % оцтовій кислоті впродовж 24 год, який фільтрували через скляний фільтр із середнім розміром пор, рН одержаного гелю витримували не нижчою від 7.0. Гель формував тонку помірно розчинну у воді плівку на полімерній підкладці впродовж 10 хвилин. Для формування плівок товщиною більше 0,5 мм використовували тефлонові форми, час формування – від 1 до 3 діб. Для одержання нерозчинної у водному середовищі плівки її додатково обробляли гідроксидом натрію (0,1 н розчин). Одержане таким чином покриття міцне, має високу адгезію до шкіри, повільніше деградує.

Для вивчення морфологічних особливостей регенерації шкіри при опіковій травмі використовували такі методи дослідження.

**1. Планіметричний метод дослідження.** Для проведення планіметрії проводили документування поверхні дефекту фотоапаратом Cannon 550 DEOS кожної доби. Планіметрію ранової поверхні проводили за допомогою програми «SEO Image lab 2.0» (Суми, Україна) з урахуванням загальної площі дефекту в  $\text{см}^2$ , відносної площі некрозу, грануляцій та епітелізації у відсотках.

Для оцінювання стану ранової поверхні вивчали терміни очищення рани від гнійно-некротичних мас, час появи грануляцій та початку крайової епітелізації, а також терміни повної епітелізації поверхні рани. Терміни загоєння ран визначаються швидкістю загоєння, яка становить абсолютну чи відносну величину, що характеризує зміни площі рани за одиницю часу. Показники швидкості загоєння дозволяють установити темпи репаративної регенерації в різні фази процесу ранового загоєння, відображаючи зменшення площі ранової поверхні як у період заповнення ран грануляційною тканиною, так і за рахунок концентричного скорочення та рубцювання, а не лише епітелізації грануляційної поверхні.

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) за формулою

$$\text{ЗПР} = (S - S_n) \cdot 100/S \cdot t,$$

де  $S$  – площа рани попереднього вимірювання,

$S_n$  – площа рани на даний час,

$t$  – кількість діб між першим та наступним вимірюваннями.

Застосування наведених показників дозволяє використовувати швидкість загоєння як величину, що визначає швидкість перебігу зазначених процесів разом узятих.

**2. Цитологічне дослідження ранової поверхні.** 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. Препарати висушували на повітрі, фіксували сумішшю Никифорова та забарвлювали за Романовським-Гімзою. Готові препарати досліджували для встановлення характеру цитогам у світловому мікроскопі «Olympus BH 2» з цифровою відеокамерою DCM 510 5,0 pixels.

Вивчення одержаних цитограм проводили за такими показниками: кількістю лейкоцитів у полі зору, клітинним складом у відсотках: лейкоцитів (нейтрофіли, лімфоцити, моноцити, еозинофіли), гістіоцитів (макрофаги, полібласти) і клітин сполучної ткани (фібробласти), а також ендотеліоцитів та епітеліоцитів. Підрахунок цитограм проводили на 200 клітинах. Враховували також кількісний склад мікрофлори, характер фагоцитозу, наявність і кількісний склад лейкоцитів з ознаками дегенерації та деструкції у вигляді каріопікнозу, каріорексису та цитолізу. На підставі цитологічної картини мазків-відбитків визначали такі типи цитограм: I тип – некротичний, II – дегенеративно-запальний, III – запальний, IV – запально-регенераторний, V – регенераторно-запальний і VI тип – регенераторний.

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

Порівняльне оцінювання загоєння опікових ран проводили за комплексом морфологічних показників, що характеризують регенераторний процес: характером пошкодження епідермісу та дерми; термінами й особливостями очищення рани; наявністю та ступенем інтенсивності запального процесу, розладів кровообігу; наявністю та якісним складом клітинного інфільтрату; ступенем відторгнення струпу над регенеруючою поверхнею шкіри; ступенем зрілості грануляційної тканини за співвідношенням клітинних та волокнистих елементів; термінами і ступенем розвитку сполучнотканинного й епітеліального регенератів, рівнем їх диференціювання та поширення; наявністю або відсутністю

синхронності регенераторних процесів у системі епітелій-сполучна тканина; особливостями процесу ангіонеогенезу; наявністю або відсутністю морфологічних проявів патологічної регенерації епітелію та сполучної тканини (гіперплазія, рубцювання).

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

**4. Статистичні методи дослідження.** Одержані дані обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми для обробки статистичної інформації IBM SPSS Statistics 21. Для з'ясування типу розподілу даних використовували діаграми з кривою нормального розподілу (колокол Гаусса) і тест Колмогорова-Смирнова. Визначення ймовірності порівнюваних параметрів між різними вибірками проводили з використанням параметричних (порівняння середніх за допомогою t-тесту). Для оцінювання ступеня взаємозв'язку (визначення сили та спрямованості зв'язку) між вибірками використовували коефіцієнт кореляції Пірсона ( $r$ ). Для виявлення розходжень у рівнях досліджуваної ознаки у віковому аспекті застосовували Н-тест загальної рангової послідовності значень Крускала–Уоліса. Дані двофакторного рангового дисперсійного аналізу Фрідмана застосовували для визначення значущості різниці показників у динаміці термінів спостереження. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки ( $M$ ), її дисперсії та похибки середньої ( $m$ ). Відмінності вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95 % ( $p \leq 0,05$ ).



### 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ушкодження зовнішнього покриву внаслідок термічної травми призводить до зниження захисних механізмів, що обумовлюється як порушеннями бар'єрних функцій шкіри, так і розладами мікроциркуляції. Денатурація клітин шкіри та накопичення токсинів тканинного й мікробного походження негативно впливають на імунну систему. Складові опікового ексудату пригнічують місцевий імунітет, хемотаксис та міграцію лейкоцитів, а також клітинну проліферацію. Опіковий струп є живильним середовищем для патогенної мікрофлори, що обумовлює ризик виникнення гнійно-запальних ускладнень і, як наслідок, поглиблення некротичних процесів, уповільнення грануляції та кінцевої епітелізації рани. Сучасний підхід до лікування термічних ушкоджень має базуватися на комплексному впливі засобу, який використовується для місцевої терапії ураженої опіковим процесом тканини, на основні ланки патологічного процесу, що можливо лише на підставі вивчення патогенезу ранового процесу.

Незважаючи на значну кількість праць, присвячених дослідженню механізмів загоєння опікових ушкоджень, а також вивченню ефективності засобів для місцевого лікування опіків, зокрема препаратів на основі природного походження, на сьогодні залишаються недостатньо вивченими морфофункціональні особливості регенерації термічних пошкоджень шкіри під час застосування хітозанових матеріалів у віковому аспекті, що визначає актуальність проведених експериментальних досліджень для встановлення нових способів корекції патологічних змін, викликаних опіками.

Абсолютні планіметричні величини, що дозволяють об'єктивно оцінити стан опікової рани, не надають даних про ступінь вираженості патологічних процесів. Тому під час проведення планіметричних досліджень ранового дефекту, крім загальної площі рани, також вираховувалися відносні показники: площа некрозу, площа грануляційної тканини та площа епітелізації. Планіметричні дослідження ранової поверхні на 1-шу добу спостереження виявили значну площу

некрозу, що займав більше 50 % від загальної площі опікового дефекту в тварин усіх вікових груп, при цьому достовірних відмінностей цього показника між контрольною та експериментальною серіями, як і загальної площі рани, виявлено не було (табл. А.7).

На 3-тю добу спостереження загальна площа дефекту була меншою в експериментальній серії тварин усіх вікових груп порівняно з контрольною. Достовірною ця різниця виявилася у тварин молодого (на 21,47 % ( $p \leq 0,01$ )) та зрілого (на 17,90 % ( $p \leq 0,01$ )) віку. Також і грануляційна тканина була виявлена лише у тварин цих самих вікових періодів ( $9,00 \pm 3,61$ ) % та ( $5,83 \pm 3,69$ ) % відповідно) під час застосування хітозану. Відносна площа некрозу також була меншою в експерименті, однак достовірною ця різниця була лише у тварин молодого віку й становила 8,19 % ( $p \leq 0,05$ ).

Вивчення планіметричних показників ранової поверхні на 7-му добу спостереження виявило зменшення загальної площі рани у тварин усіх вікових періодів порівняно із контролем на 27,87 % ( $p \leq 0,05$ ), 33,80 % ( $p \leq 0,05$ ) та 21,93 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. У тварин молодого та зрілого віку експериментальної серії зменшився відсоток площі некрозу на 9,78 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 8,06 % ( $p \leq 0,05$ ), а також збільшилася частка площі грануляцій на 17,20 % ( $p \leq 0,05$ ) та 16,39 % ( $p \leq 0,05$ ). Ділянка епітелізації, виявлена в цьому терміні дослідження, становила більше на 25,93 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та на 29,82 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин зрілого віку експериментальної серії. Стимулювальний вплив на процеси грануляції та епітелізації ран хітозану з високими MW та DD довів Alsarra I. A. як на підставі гістологічних досліджень, так і під час вивчення активності колагенази. У тварин старечого віку позитивні зрушення проявилися появою епітеліального регенерату вже в цьому терміні спостереження в експериментальній серії з площею ( $5,77 \pm 0,15$ ) %, на відміну від контрольної серії, у тварин якої епітеліальна тканина виявлена не була.

До 14-ї доби відбулося прогресивне зменшення як загальної площі дефекту, так і відсотка некротизованих тканин у тварин контрольної серії та була виявлена

достовірна різниця цих показників у експериментальній серії у всіх вікових групах. Так, у тварин молодого віку різниця загальної площі дефекту становила 30,65 % ( $p \leq 0,05$ ), зрілого віку – 41,46 ( $p \leq 0,05$ ) %, старечого – 22,64 % ( $p \leq 0,05$ ), а площа некрозу була меншою у відповідних вікових періодах – на 17,18 % ( $p \leq 0,05$ ), 14,16 % ( $p \leq 0,05$ ) та 14,31 % ( $p \leq 0,05$ ). Продовжувалося збільшення відсотка площі грануляцій та епітелізації. Необхідно відмітити, що застосування хітозанових плівок обумовлювало достовірну різницю у відносній площі епітелізації контрольної та експериментальної серій лише у тварин зрілого та старечого віку – на 7,37 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 33,16 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. Відсутність цитотоксичності та добра біосумісність хітозанових матеріалів сприяють проліферації фібробластів. Взаємодія фібробластів із кератиноцитами призводить до міграції клітин від країв рани по рановому ложу, проліферації клітин маргінальних ділянок та проліферації новоутвореного епітелію, що мігрував до центру рани. Крім того, сприяння хітозану клітинній адгезії, життєздатності та проліферації клітин було продемонстроване на культурах мишачих фібробластів та людських епідермальних кератиноцитах.

На 21-шу добу у тварин молодого та зрілого віку раневий дефект не визначався ні в контрольній, ні в експериментальній серії, а у тварин старечого віку площа раневого дефекту зменшилася до  $(0,36 \pm 0,12)$  см<sup>2</sup> у контрольній серії й не була зафіксована під час застосування хітозану. Зона некрозу не була виявлена в жодній із груп спостереження. У тварин молодого та зрілого віку відбулося збільшення відсотка епітелізації та зменшення частки грануляційної тканини з достовірною різницею між серіями. Так, відносна площа епітелізації була більшою на 7,26 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та на 10,85 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин зрілого віку. Відносна площа грануляцій зменшилась у тварин цих вікових груп на 13,40 % ( $p \leq 0,05$ ) та на 19,47 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно. Подібні зміни відбувались і у тварин старечого віку. Проте достовірним виявилось лише збільшення показників площі епітеліального регенерату в експериментальній групі тварин на 8,42 % ( $p \leq 0,05$ ). Рівновага між дозріванням та організацією

грануляцій та рубцевої тканини є основою феномена ранової контракції, яка в II та III фазах загоєння поєднується з інтенсивною епітелізацією, що свідчить про неускладнений перебіг ранового процесу за сприяння хітозанових мембран.

Дані двофакторного рангового дисперсійного аналізу показали, що всі планіметричні показники мали значущість різниці з ймовірністю похибки  $p < 0,01$  у динаміці термінів спостереження у тварин усіх вікових груп. Аналіз Н-теста загальної рангової послідовності значень виявив значущу різницю для загальної площі опікового дефекту у всіх термінах спостереження на відміну від площі некрозу, для якої на 1-шу добу такої різниці між тваринами різних вікових груп встановлено не було. Відносна площа грануляцій достовірно відрізнялася ( $p < 0,01$ ) у віковому аспекті лише на 21-шу добу, а відносна площа епітелізації – на 14-ту ( $p < 0,01$ ) та 21-шу ( $p < 0,01$ ) добу експерименту (табл. А.7).

Очищення ран від некротичних тканин при застосуванні хітозанових мембран відбулося порівняно з контролем у тварин молодого та старечого віку на одну добу ( $p \leq 0,05$ ), а у щурів зрілого віку на 0,83 доби ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.6) раніше. Переважання запальних і некробіотичних процесів у тварин контрольної групи уповільнювало розвиток грануляційної тканини та проліферацію клітинного регенерату, що проявлялося затриманням крайової епітелізації. Застосування хітозану не лише активізувало очищення рани від некротичних тканин, а й зменшувало вираженість мікроциркуляторних розладів, що гальмували утворення та дозрівання грануляційної тканини. Поява грануляційної тканини була зафіксована достовірно раніше на одну добу ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого, на 0,83 доби ( $p \leq 0,01$ ) – у особин зрілого та 0,67 доби ( $p \leq 0,05$ ) у щурів старечого віку. Початок крайової епітелізації також відбувся достовірно раніше в експериментальній серії: на 1,17 ( $p \leq 0,05$ ) доби, 0,84 доби ( $p > 0,05$ ) та 0,66 доби ( $p \leq 0,05$ ) у тварин відповідних вікових періодів. Необхідно відмітити, що терміни повної епітелізації за умов застосування хітозану скоротилися відповіно на 1,53 ( $p \leq 0,05$ ) доби, 0,34 доби ( $p > 0,05$ ) та 0,83 ( $p \leq 0,05$ ) доби. При цьому СерШЗРП у щурів експериментальної серії була більшою порівняно з

контрольною серією відповідно на 14,12 % ( $p \leq 0,05$ ), 20,22 % ( $p \leq 0,01$ ) та 19,23 % ( $p \leq 0,05$ ). Відсоток ЗПР за добу відрізнявся достовірно від контролю у тварин всіх вікових груп лише в періоди з 1-ї до 3-ї доби та з 4-ї до 7-ї доби. Так, з 1-ї до 3-ї доби він був найбільшим у тварин молодого віку –  $(9,56 \pm 1,92)$  %. У період 4-ї до 7-ї доби найбільша різниця на користь тварин експериментальної групи в ЗПР була встановлена у тварин зрілого віку – 55,87 % ( $p \leq 0,01$ ). Із 8-ї до 14-ї доби відсоток зменшення площі рани був також більшим у тварин усіх вікових груп при застосуванні хітозанових мембран, проте достовірної різниці порівняно з контролем виявлено не було. Таким чином, якщо в II фазі ранового загоєння переважає механізм ранової контракції, то в III фазі та наприкінці загоєння – площа ранової поверхні зменшується завдяки активному росту грануляцій та поступовій епітелізації рани, оскільки хітозан, стимулюючи клітинну міграцію та проліферацію, в кінцевому підсумку прискорює епітелізацію ділянки ушкодження та ранове загоєння в цілому.

Серед показників динаміки стану опікової поверхні у віковому аспекті за результатами тесту Крускала-Уоліса значущу різницю мали такі показники, як термін повної епітелізації ( $p < 0,01$ ), СерШЗРП ( $p < 0,01$ ) та відсоток ЗПР за добу ( $p < 0,05$ ) (табл. А. 6).

Необхідно зазначити, що проведений кореляційний аналіз виявив взаємозв'язок між показниками планіметрії в певних термінах спостереження та динамікою стану ранової поверхні. Так, на 7-му добу експерименту у тварин зрілого та старечого віку загальна площа опікового дефекту мала зворотній зв'язок із відсотком ЗПР 4–7-ї доби ( $r = -0,877$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,910$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.1 а, б). У тварин молодого віку на цю добу виявлено негативний корелятивний зв'язок площі епітелізації із цим самим показником динаміки ранового загоєння – ( $r = -0,861$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.2 а). Відповідно на 14-ту добу площа грануляційної тканини корелювала з відсотком ЗПР 8–14-ї доби, проте зв'язок мав позитивний напрямок ( $r = 0,883$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.2 б). Таким чином, більший за площею опік має повільнішу динаміку загоєння, однак і збільшення

площі епітелію обумовлює уповільнення площі рани, регулюючи процеси грануляції та епітелізації, ймовірно, за механізмом контактної інгібіції.

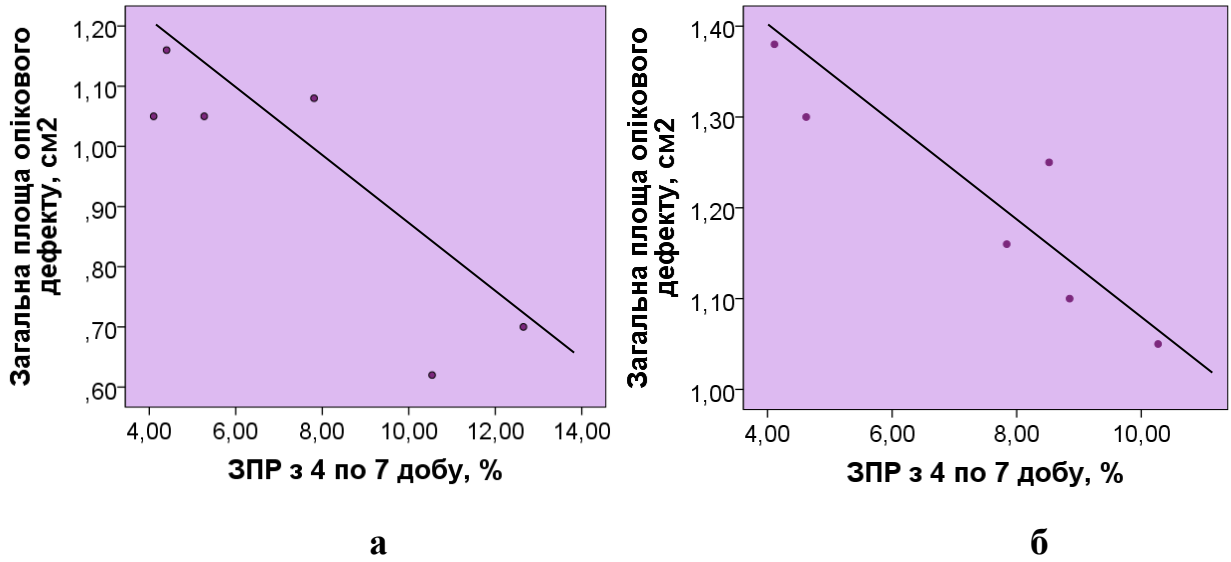


Рисунок 5.1 – Кореляційні зв’язки загальної площі опікового дефекту тварин зрілого (а) та старечого (б) віку на 7-му добу спостереження та динаміки ранового загоєння

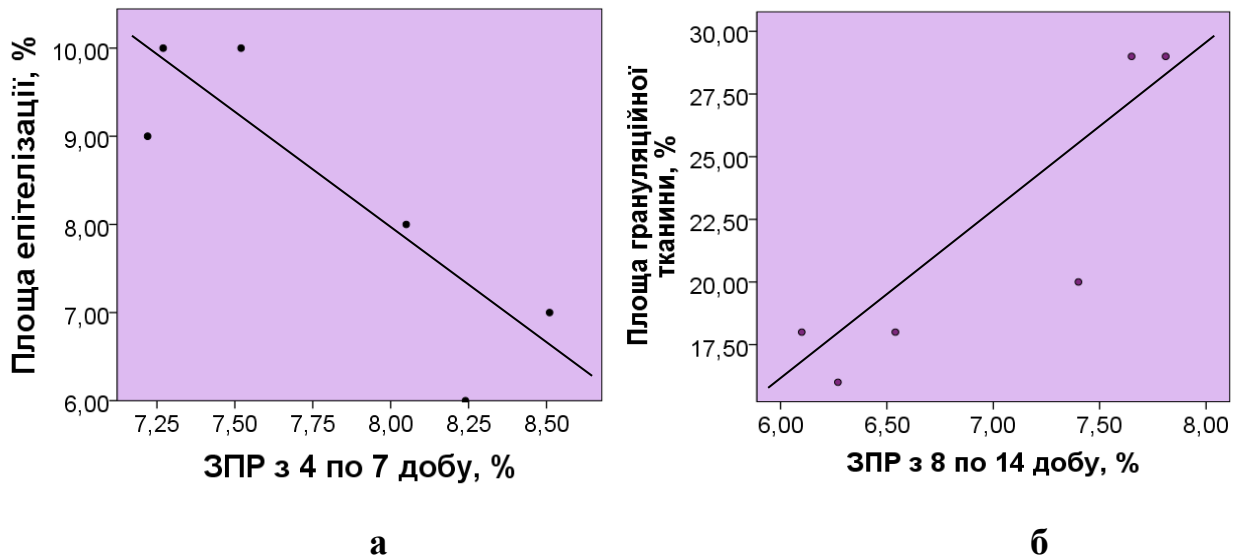


Рисунок 5.2 – Кореляційні зв’язки площ грануляційної тканини на 14-ту добу (а) й епітелізації на 7-му добу (б) та динаміки ранового загоєння у тварин молодого віку

Вивчаючи гістологічні препарати, через одну добу експерименту було виявлено наявність сухого коагуляційного некрозу епідерміса, дерми та її придатків у ділянці опікової травми.

Порушення структури епідерміса, набряк сосочкового та сітчастого шарів дерми, зміни в структурі колагенових та еластичних волокон, клітинна інфільтрація, судинні зміни у вигляді розширення кровоносних судин, стазу, тромбозів та крововиливів спостерігались у тварин усіх вікових груп, проте у тварин старечого віку вони мали найбільшу вираженість.

Морфометричні дослідження гістологічних препаратів на 1-шу добу спостереження не виявили достовірних відмінностей між показниками відносної площі стромального набряку тварин контрольної та експериментальної серій усіх вікових груп. Також не було виявлено і достовірних змін показників стану судин дерми під час застосування хітозану (табл. А.8).

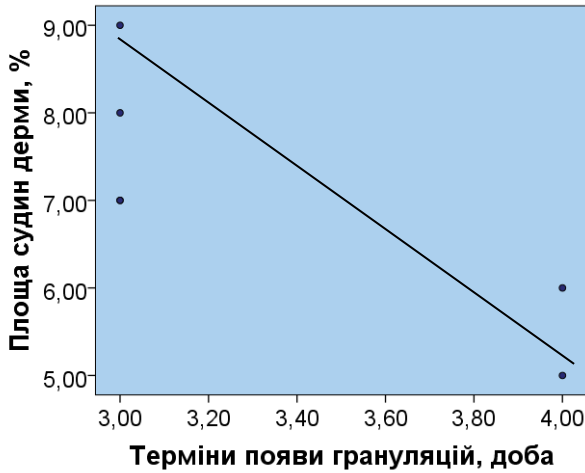
Незважаючи на те, що формування струпа у тварин усіх вікових груп відбувалося в тих самих термінах дослідження, що й контрольній, в експериментальній серії виявлялися певні якісні відмінності. Так, на 3-тю добу дослідження наявність серозно-гнійного ексудату під струпом спостерігалась у тварин усіх вікових груп контрольної серії, проте розм'якшення його центральної частини— лише у тварин старечого віку. Також найбільша вираженість дезорганізації фібрилярних структур та наявність осередків гнійного запалення були виявлені у тварин цієї самої вікової групи. У тварин експериментальної групи прояви судинних змін та периваскулярний набряк мали меншу вираженість, ексудат під струпом був відсутнім у тварин усіх вікових періодів, що обумовлено здатністю хітозану, адсорбуючи зайву рідину, контролювати баланс вологи на поверхні рани та оптимальний парообмін. Крім того, біосумісність хітозану виключає можливість виникнення реактивних та гранулематозних запальних реакцій, про що було повідомлено на підставі гістологічних досліджень опікових ран щурів.

Дослідження гістологічних препаратів на 3-тю добу експерименту виявило позитивну динаміку показників морфометрії у тварин усіх вікових груп. Проте якщо у тварин молодого та зрілого віку достовірні відмінності між контрольною та експериментальною серіями спостерігалися для всіх показників, крім відносної площі судин дерми, то у тварин старечого віку достовірних відмінностей не зафіксовано. Необхідно зауважити, що найбільша різниця була встановлена для відносної площі судин дерми – 22,89 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та 25,92 % ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин зрілого віку на тлі істотної різниці у динаміці відносної площі стромального набряку – 18,63 % ( $p \leq 0,05$ ) та 16,14 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.8). Створення оптимального ранового середовища та стимуляція хітозаном міграції нейтрофільних гранулоцитів та активізації їх діяльності обумовлюють активізацію процесів очищення та зменшення застійних проявів запальної реакції у вигляді стромального набряку.

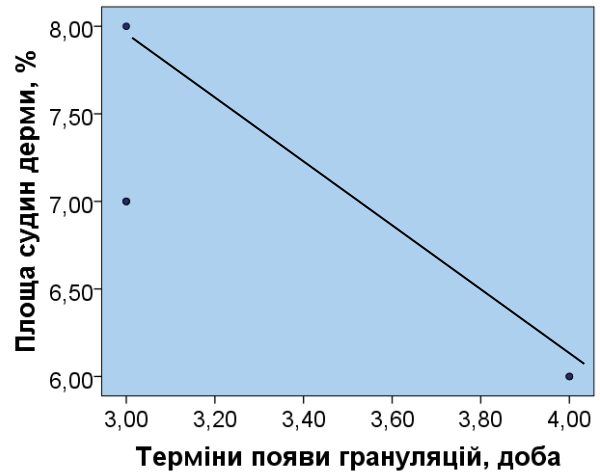
Кореляційний аналіз показників на 1-шу та 3-тю доби спостереження виявив зворотний зв'язок між площею судин дерми и терміном появи грануляцій – ( $r = -0,822$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,857$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.3 а, б), а також між площею судин дерми та відсотком ЗПР з 4-ї до 7-ї доби ( $r = -0,860$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,851$ ;  $p < 0,05$ ) у тварин молодого віку (рис. 5.4 а, б).

На 7-му добу експерименту опікова поверхня у тварин контрольної групи залишалася покритою струпом. Епідерміс маргінальних ділянок ранового дефекту мав ознаки гіпертрофії, втрачав чітку диференціацію на шари, виявлялися деструктивні зміни кератиноцитів. Набряк та застійні явища зберігалися та особливо проявлялися в ділянці дна рани. Інфільтрація поліморфно-ядерними нейтрофілами також зберігалася, проте розпочалося формування осередкової лейкоцитарної інфільтрації, що відмежовувала детрит.



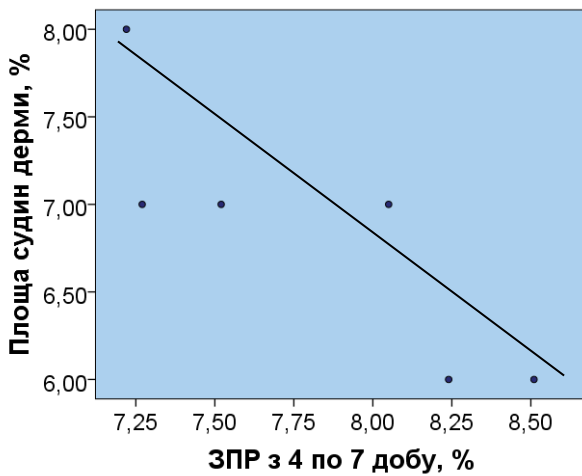


а

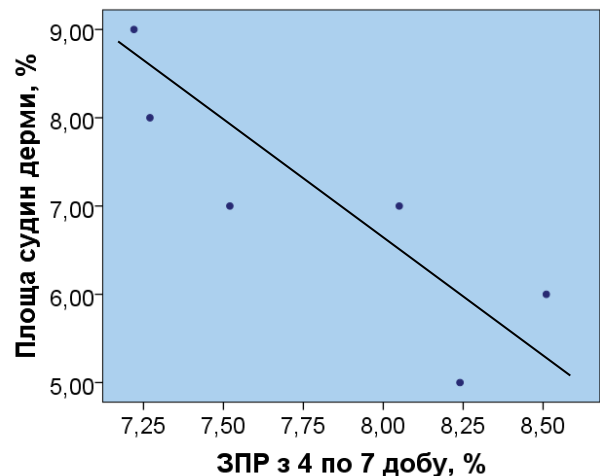


б

Рисунок 5.3 – Кореляційні зв'язки між площею судин дерми на 1-шу (а) та 3-тю добу (б) спостереження з динамікою ранового загоєння у тварин молодого віку



а



б

Рисунок 5.4 – Кореляційні зв'язки між площею судин дерми на 1-шу (а) та 3-тю добу (б) спостереження та динамікою ранового загоєння у тварин молодого віку

Застосування хітозану приводило до зменшення проявів мікроциркуляторних порушень, набряку дерми та позитивної динаміки формування макрофагально-гістіоцитарного валу на межі некротизованих та життєздатних тканин у тварин молодого та зрілого віку. У тварин старечого віку

виявлялися лише поодинокі осередки гнійного запалення та значне зменшення явищ ексудації навколо них.

Таким чином, можна стверджувати, що глибоке ураження тканин та судин, деструкція клітинних елементів пригнічують репаративні процеси в цьому терміні спостереження. Особливо помітним цей негативний вплив виявився у тварин старечого віку, оскільки поява грануляційної тканини та ознаки неоангеогенезу відмічалися на цю добу експерименту лише у тварин молодого та зрілого віку. При цьому використання хітозану завдяки його властивостям стимулювати міграцію макрофагів і проліферацію фібробластів обумовлювало більш рівномірне формування грануляцій по всій ділянці рани та стимулювало утворення гемокапілярів. Клітинна адгезія та проліферація при застосуванні хітозана також були доведені на культурі людських дермальних фібробластів *in vitro*. A. Blasinska та J. Drobniak повідомили про збільшення кількості клітин і рівня GAG у грануляційній тканині під час підшкірної імплантації лабораторним щурам водорозчинного похідного хітину.

Дослідження гістологічних препаратів на 7-му добу спостереження виявило також позитивну динаміку порівняно із 3-ю добою спостереження. Так, відносна площа стромального набряку зазнала зменшення, відносна площа судин дерми та їх середній діаметр також зменшилися, відносна площа судин грануляційної тканини та їх середній діаметр збільшилися порівняно з попереднім терміном дослідження у тварин усіх вікових груп. Позитивний вплив хітозану на процес регенерації внаслідок його стимулювального впливу на грануляційну тканину співвідноситься з даними попередніх досліджень. При цьому достовірна різниця між відповідними морфометричними показниками була визначена у тварин усіх вікових груп. Необхідно зазначити, що найбільш вираженою ця різниця такого показника, як відносна площа стромального набряку, була у тварин молодого та старечого віку – відповідно 29,86 % ( $p \leq 0,05$ ) та 27,36 % ( $p \leq 0,05$ ), в той час як різниця між показниками середнього діаметра судин грануляційної тканини мала найбільше значення у тварин старечого віку – 15,72 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.8).

Під час проведення кореляційного аналізу ми встановили прямий зв'язок (рис. 5.5 а) між площею стромального набряку на 1-шу добу та терміном появи грануляцій у тварин зрілого віку ( $r = 0,952$ ;  $p < 0,01$ ), а у тварин старечого віку – на 7-му добу (рис. 5.5 б) експерименту ( $r = 0,832$ ;  $p < 0,05$ ). У тварин зрілого віку на 3-тю добу площа судин дерми мала негативний кореляційний зв'язок із терміном появи грануляцій ( $r = -0,857$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.6 а).

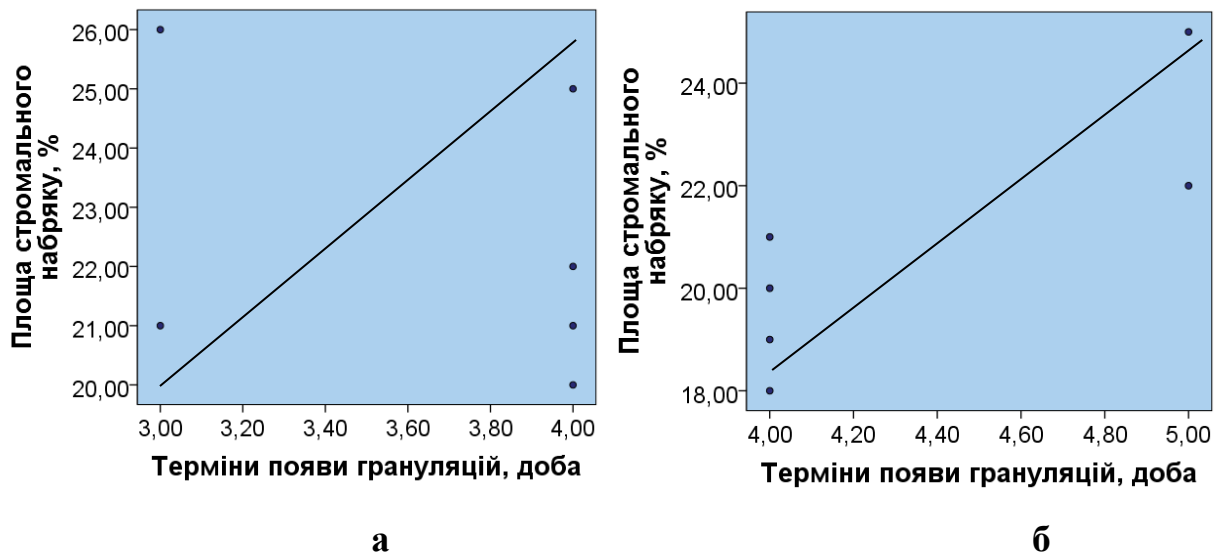


Рисунок 5.5 – Кореляційні зв'язки між площею стромального набряку на 1-шу (а) та 7-му доби (б) спостереження та динамікою ранового загоєння

Крім того, у тварин зрілого віку площа стромального набряку на 3-тю добу мала також позитивний зв'язок із терміном очищення ( $r = 0,837$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.6 б) та терміном повної епітелізації рани ( $r = 0,963$ ;  $p < 0,01$ ) (рис. 5.7 а), а на 7-му добу – з відсотком ЗПР в період із 7-ї до 14-ї доби ( $r = -0,841$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.7 б). Таким чином, можна стверджувати, що стромальний набряк уповільнював динаміку загоєння опіку, збільшуючи терміни очищення рани, появи грануляційної тканини та епітелізації рани. Також відносна площа судин дерми мала негативні кореляційні зв'язки з терміном очищення та терміном повної епітелізації рани у тварин зрілого віку – ( $r = -0,926$ ;  $p < 0,01$ ) та ( $r = -0,919$ ;  $p < 0,01$ ) на 7 добу (рис. 5.8 а, б). У тварин старечого віку подібні кореляційні зв'язки між площею судин дерми та терміном очищення, а також площею судин дерми та

терміном повної епітелізації рани вже на 3-тю добу експерименту – ( $r = -0,858$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,833$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.9 а, б) відповідно.

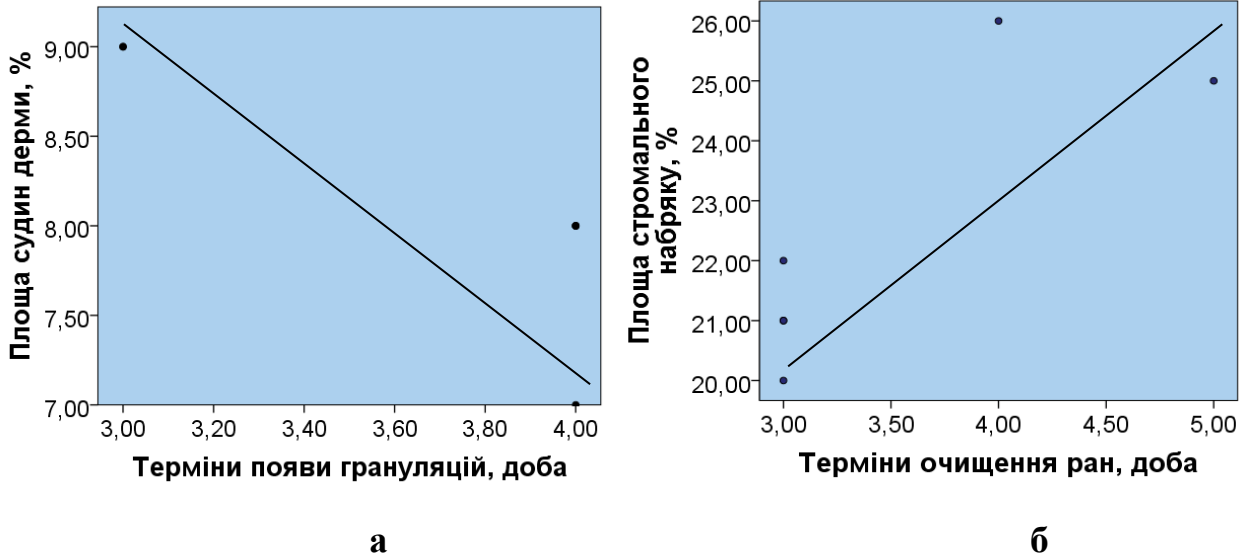


Рисунок 5.6 – Кореляційні зв'язки між площею судин дерми (а), площею стромального набряку (б) на 3-тю добу спостереження та динамікою ранового загоєння у тварин зрілого віку

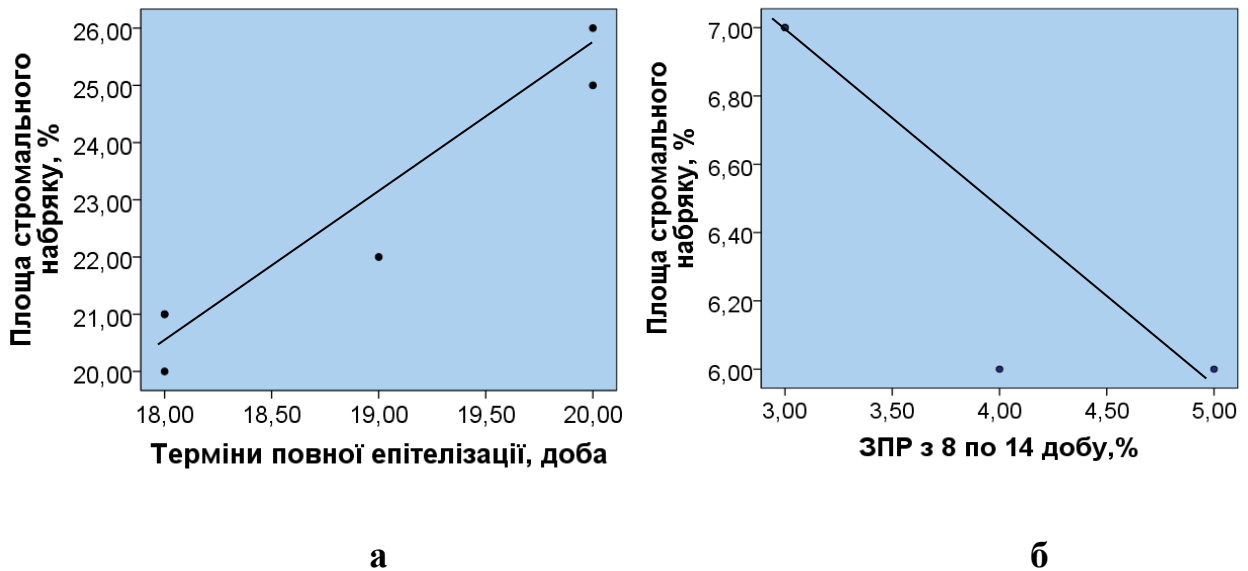


Рисунок 5.7 – Кореляційні зв'язки між площею стромального набряку на 3 (а) та 7 доби (б) спостереження та динамікою ранового загоєння у тварин зрілого віку

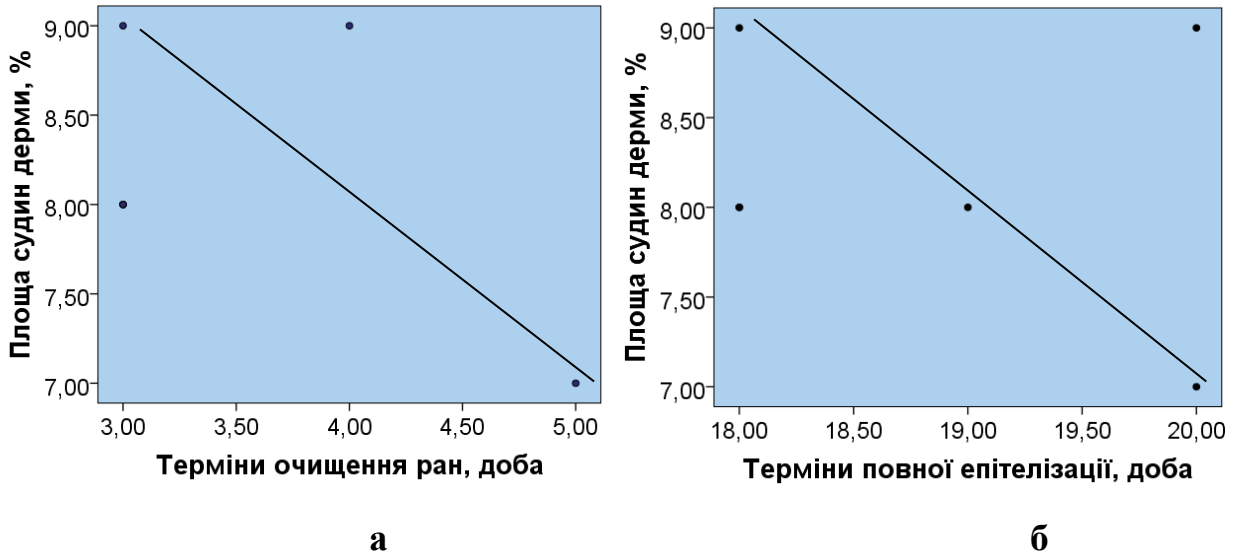


Рисунок 5.8 – Кореляційні зв'язки площі судин дерми спостереження (а) та динаміки ранового загоєння у тварин зрілого віку (б)

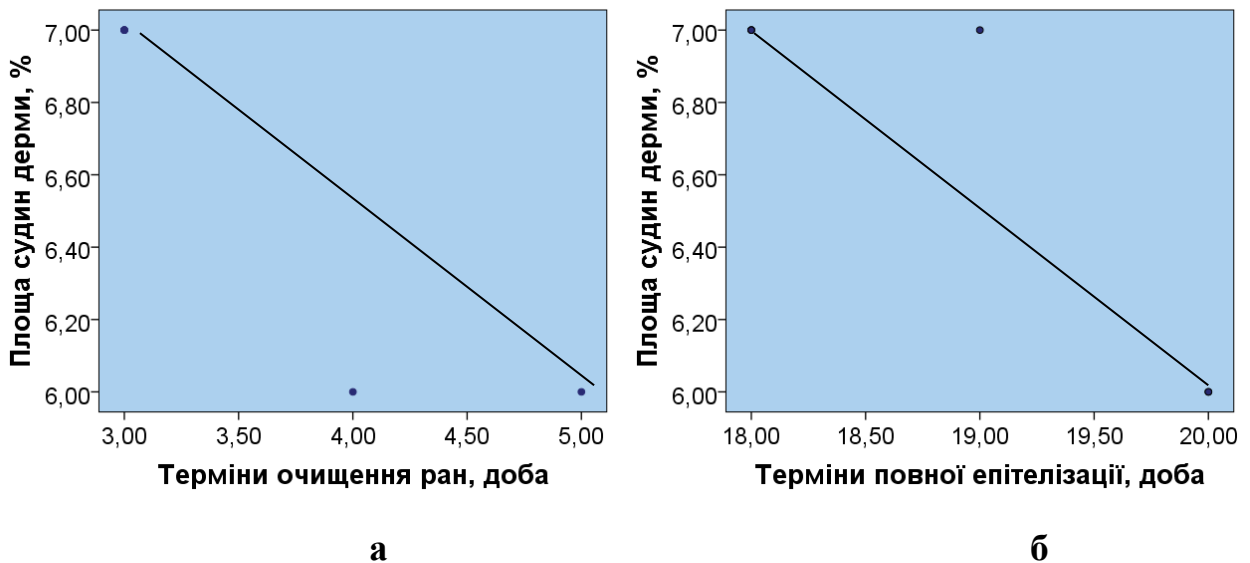


Рисунок 5.9 – Кореляційні зв'язки площі судин дерми спостереження (а) та динаміки ранового загоєння у тварин старечого віку (б)

Діаметр судин грануляційної тканини тварин старечого віку на 3-тю та 7-му доби мали зворотні зв'язки з відсотком ЗПР 8–14-ї доби – ( $r = -0,840$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,820$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.10 а, б).

На 14-ту добу експерименту у тварин усіх вікових груп спостерігалася часткова епітелізація ранової поверхні, що проявлялася в периферійних ділянках.

Проте в центральних ділянках зберігався струп, під яким виявлялася грануляційна тканина, що мала більший розвиток у тварин молодого та зрілого віку порівняно зі щурами старечого віку.

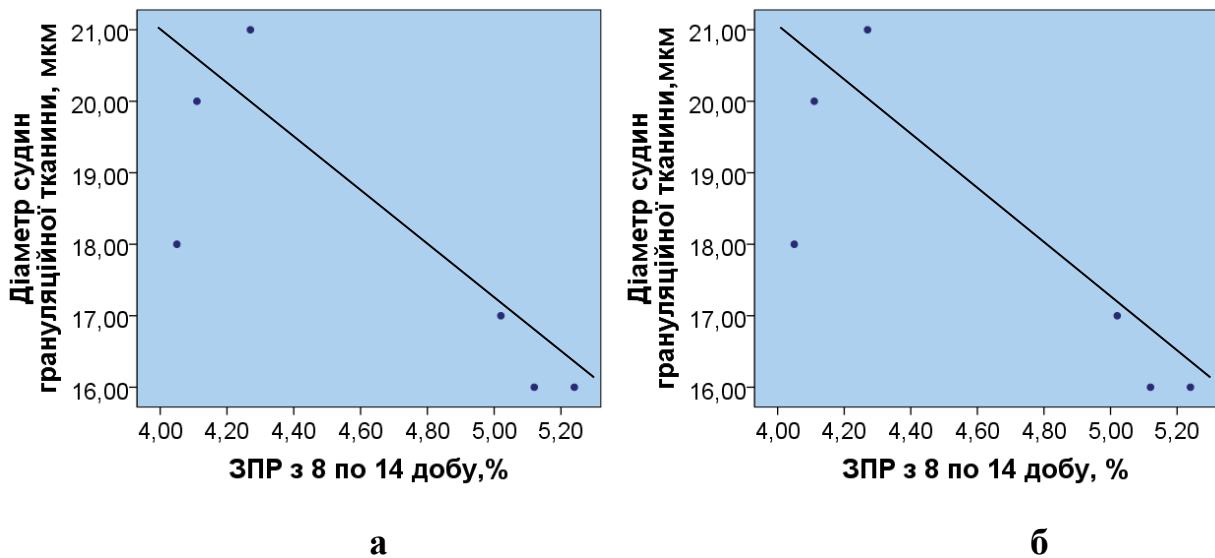


Рисунок 5.10 –Кореляційні зв'язки діаметра судин грануляційної тканини на 3-тю (а) та 7-му доби (б) спостереження та динаміки ранового загоєння у тварин старечого віку

Завдяки застосуванню хітозану збільшувалася кількість елементів грануляційної тканини та зменшувались ознаки запальної реакції, струп мав меншу товщину. Клітинна проліферація у тварин контрольної групи гальмувалась недостатністю розвитку сполучної тканини та мікроциркуляторного русла. Збільшувалася кількість полібластів, які диференціювались у профіброласти, виявлялися також і фіброласти як основа клітинного складу регенераційного процесу. Швидке збільшення кількості фіброластів забезпечувалося не тільки їх мітотичним поділом, але й в результаті розвитку їх із мігруючих від судин субендотеліальних та адвентиціальних клітин. Застосування хітозану забезпечувало активізацію синтезу фіброластами глікозаміногліканів та фібрилярних структур, що обумовлювало розвиток сполучної тканини. R. A. Muzzarelli установив, що хітозанові матеріали не лише стимулюють клітинну

міграцію, продукцію цитокінів, а й активують діяльність фібробластів та синтез колагену IV типу. Активізацію синтезу колагена в процесі загоєння на модельованій рані щурів довели також і К.Кojіма та співавт. Мікроциркуляторних розладів та ділянок некрозу в щурів експериментальної групи майже не спостерігалось. Епітелізація відбувалась активніше, оскільки хітозан стимулював утворення епітеліальних тяжів із неушкоджених ділянок та збережених придатків шкіри, а також появу осередків острівцевої регенерації.

На 14-ту добу дослідження, незважаючи на позитивну динаміку всіх показників у тварин як контрольної, так й експериментальної серії, у тварин молодого та зрілого віку достовірну різницю зафіксували лише при визначенні відносної площі стромального набряку (відповідно 20,00 % ( $p \leq 0,05$ ) і 20,04 % ( $p \leq 0,05$ )), а також середнього діаметра судин грануляційної тканини, що був більшим на 11,37 % ( $p \leq 0,05$ ) та 10,59 % ( $p \leq 0,05$ ) у щурів цих вікових періодів. У той час як у тварин старечого віку достовірну різницю мали всі показники морфометрії гістологічних препаратів (табл. А.8). Так, відносна площа стромального набряку під час застосування хітозану виявилася меншою на 13,76 % ( $p \leq 0,05$ ), відносна площа судин дерми – на 9,76 % ( $p \leq 0,05$ ), а середній діаметр її судин – на 9,76 % ( $p \leq 0,05$ ). Площа грануляційної тканини у тварин старечого віку експериментальної серії виявилася достовірно меншою від контролю у відносній площі на 10,17 % ( $p \leq 0,05$ ), а в середньому діаметрі її судин – на 8,59 % ( $p \leq 0,05$ ). Позитивна динаміка як площі, так і діаметра судин дерми та грануляційної тканини обумовлювалась оптимізуючим впливом хітозану і на клітинну проліферацію, і на формування грануляційної тканини й волокнистого компонента сполучної тканини, що обумовлювало оптимальний перебіг регенерації та відновлення структури шкіри.

Візуально на 21-шу добу в контролі струп був відсутнім, відбулася часткова епітелізація раневої поверхні. Недостатньо зріла грануляційна тканина, бідна на гемокапіляри та фібробласти, уповільнювала процеси реорганізації у тварин контрольної серії. Відмічались ознаки порушень проліферації та

диференціювання епідерміса, а також порушення структури молоді сполучної тканини, що призводило до виникнення рубцевих змін. Особливо помітним це було у тварин старечого віку. При цьому незавершена епітелізація та гальмування дозрівання сполучної тканини мали найбільше вираження в центральній ділянці регенерату, а ступінь зрілості сполучної тканини зменшувався від поверхні рани до її дна. В експериментальній серії тварин також відбулося відшарування струпуа. Розвиток грануляційної тканини, її дозрівання та перетворення на сполучну тканину відбувались активніше порівняно з контрольною групою тварин. Кількість клітинних елементів різко зменшилась, оскільки вони фіксувалися під час організації грануляційної тканини та епітелізації. У тварин молодого та зрілого віку спостерігалася повна епітелізація ранового дефекту з утворенням тонкого ніжного рубця. Сполучна тканина формувалася рівномірно по всьому регенерату, деформацій та порушень її структури виявлено не було. Добре візуалізувався сосочковий шар, що утворював упинання в епідерміс. У крайових ділянках визначалося формування колагенових та еластичних волокон. У тварин старечого віку застосування хітозану стимулювало крайову епітелізацію, формування компонентів дерми, утворення нових кровоносних капілярів. Сполучна тканина містила тонкі фібрилярні структури та велику кількість фібробластів, що пояснюється стимулювальним впливом хітозану на проліферацію фібробластів. Доведено, що продукт деградації хітозану N-ацетил-d-глюкозамін не лише ініціює проліферацію фібробластів, а й регулює впорядковане депонування колагену. Порушень структури внаслідок рубцевих змін під час реорганізації епітеліальної та сполучної тканин не виявили завдяки повноцінному відновленню будови пошкодженої шкіри. Властивість хітозанових мембран пригнічувати келоїдоутворення доведене на культурі фібробластів *in vitro*.

На 21-шу добу морфометрія гістологічних препаратів виявила збереження динаміки змін площі судин дерми та грануляційної тканини, а також змін середнього діаметра їх судин. Однак достовірні відмінності при застосуванні



хітозану виявилися лише у тварин старечого віку – середній діаметр судин дерми був меншим на 13,46 % ( $p \leq 0,05$ ) та середній діаметр судин грануляційної тканини – більшим на 8,35 % ( $p \leq 0,05$ ), що обумовлено збільшенням кількості екстрацелюлярного матриксу та оптимізацією ремоделювання шкіри під впливом хітозану.

Для визначення значущості різниці показників у динаміці термінів спостереження був проведений двофакторний ранговий дисперсійний аналіз Фрідмана для кожного вікового періоду. За одержаними даними була встановлена значуща різниця для таких показників, як відносна площа стромального набряку, середній діаметр судин дерми, відносна площа судин грануляційної тканини та середнього діаметра її судин з ймовірністю помилки  $p < 0,01$  у тварин усіх вікових груп. Відносна площа судин дерми у тварин зрілого віку мала значущість різниці з ймовірністю помилки  $p < 0,01$ , а у тварин старечого –  $p < 0,05$ , в той час як у тварин молодого віку значущої різниці виявлено не було (табл. А.8). Н-тест загальної рангової послідовності значень Крускала-Уоліса для встановлення значущості кожного з показників у віковому аспекті виявив значущість різниці з ймовірністю помилки  $p < 0,01$  для відносної площі стромального набряку та середнього діаметра судин дерми в усіх термінах спостереження. Для відносної площі судин дерми значущість була достовірною на 1-шу, 7-му та 14-ту добу спостереження. Показники стану судин грануляційної тканини мали певні особливості. Так, якщо для відносної площі судин цієї тканини була встановлена достовірна різниця між показниками різних вікових груп у всіх термінах спостереження, крім 21-ї доби після моделювання опіку, то для середнього діаметра судин значущої різниці в жодному з термінів спостереження встановлено не було (табл. А.8).

У процесі загоєння ран незалежно від походження й наявності екзогенних чинників беруть участь одні й ті самі клітинні елементи, що забезпечує принципово подібну загальну динаміку процесу загоєння та визначає спільність об'єктивних критеріїв оцінювання перебігу ранового процесу. Різні типи цитограм

ранової поверхні характеризуються особливою цитологічною картиною, зміна показників якої обумовлює та характеризує процеси, що відбуваються під час проходження певної фази ранового загоєння.

Дослідження цитологічних препаратів виявило подібну динаміку змін у контрольних тварин молодого та зрілого віку, в той час як у тварин старечого віку спостерігалось помітне уповільнення цитологічних змін. Так, цитограми 1-ї доби дослідження належали до деративно-запального типу у тварин молодого та зрілого віку і до некротичного типу – у тварин старечого віку з переважанням детриту, залишків зруйнованих нейтрофілів та нефагоцитованої мікрофлори внаслідок деструктивного та незавершеного типів фагоцитозу й відсутності клітин макрофагально-моноцитарного ряду. Цитограми експериментальної серії тварин виявили ознаки переходу від некротичного до дегенеративно-запального типу у тварин старечого віку, що обумовлювалося зниженням кількості лейкоцитів у полі зору до  $(118,00 \pm 1,77)$  і частки нейтрофільних гранулоцитів до  $(97,67 \pm 0,21) \%$ , а також появою моноцитів та макрофагів. Достовірною виявилася різниця в кількості лейкоцитів – на 7,67 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого та 12,98 % ( $p \leq 0,05$ ) – зрілого віку порівняно з контролем і зменшення відсотка нейтрофілів у тварин цієї вікової групи відповідно до  $(93,00 \pm 1,18) \%$  та  $(92,17 \pm 1,14) \%$  (табл. А. 9). Незважаючи на це, зберігалися явища позаклітинного розміщення мікрофлори, клітинної деструкції та незавершеного типу фагоцитозу, що на тлі появи й зростання відсотка клітин макрофагально-моноцитарного ряду та полібластів дозволяє стверджувати про позитивну динаміку у тварин усіх груп експериментальної серії, що обумовлено позитивними хемоатрактантними властивостями хітозану до макрофагів, а також його здатністю стимулювати міграцію моноцитів із кров'яного русла в тканини з подальшою трансформацією їх у макрофаги. С. А. Da Silva та співавт. повідомляли про здатність продуктів біодеградації хітину та хітозану регулювати синтез цитокінів макрофагами *in vitro*.

Проведений кореляційний аналіз установив, що кількість лейкоцитів в цитограмах на 1-шу добу спостереження у тварин зрілого віку мала зворотний зв'язок із термінами очищення та повної епітелізації рани ( $r = -0,853$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,89$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.11 а, б) відповідно, а частка нейтрофільних гранулоцитів – позитивний зв'язок із відсотком ЗПР 1–3-ї та 4–7-ї діб спостереження – ( $r = 0,902$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = 0,841$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.12 а, б). Таким чином, більша кількість лейкоцитів обумовлювала більш ранні терміни очищення та повної епітелізації, більший відсоток нейтрофілів – вираженішу динаміку ЗПР за добу на початкових етапах ранового загоєння.

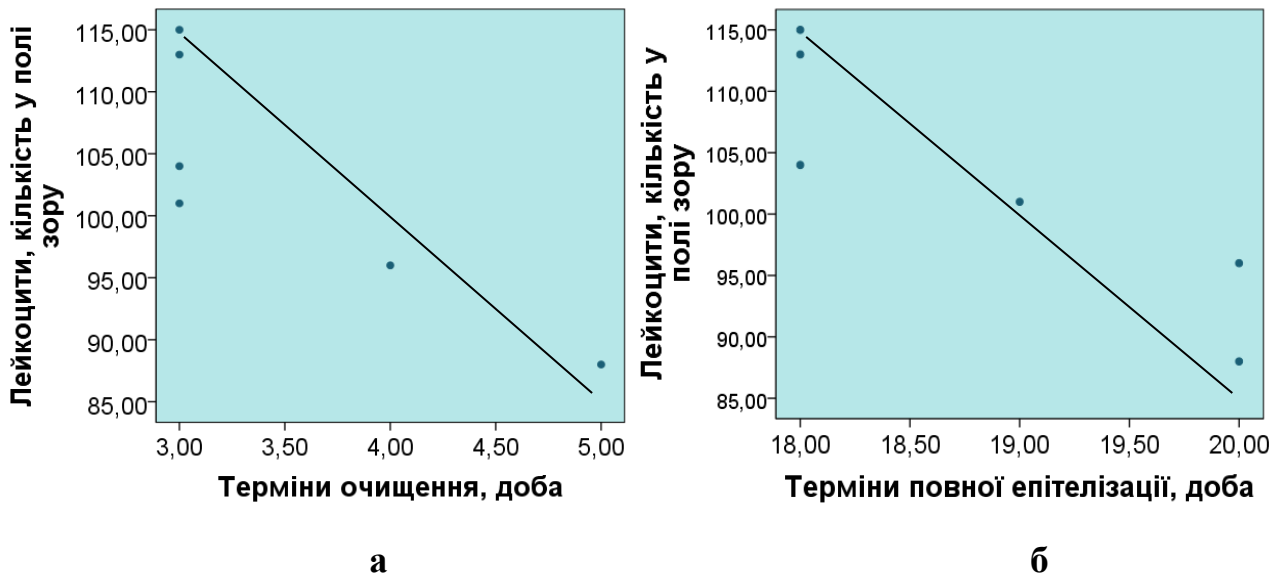


Рисунок 5.11 – Кореляційні зв'язки між кількістю лейкоцитів у тварин зрілого віку на 1-шу добу спостереження та динамікою ранового загоєння (а, б)

Відсоток моноцитів на 1-шу добу експерименту у тварин цієї вікової групи корелював із відсотком ЗПР 4–7-ї та 8–14-ї діб і їх зв'язок мав зворотній напрямок – ( $r = -0,812$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,818$ ;  $p < 0,05$ ), що свідчить про затримання динаміки площі рани за умов збереження кількості цих клітин (рис. 5.13 а, б).

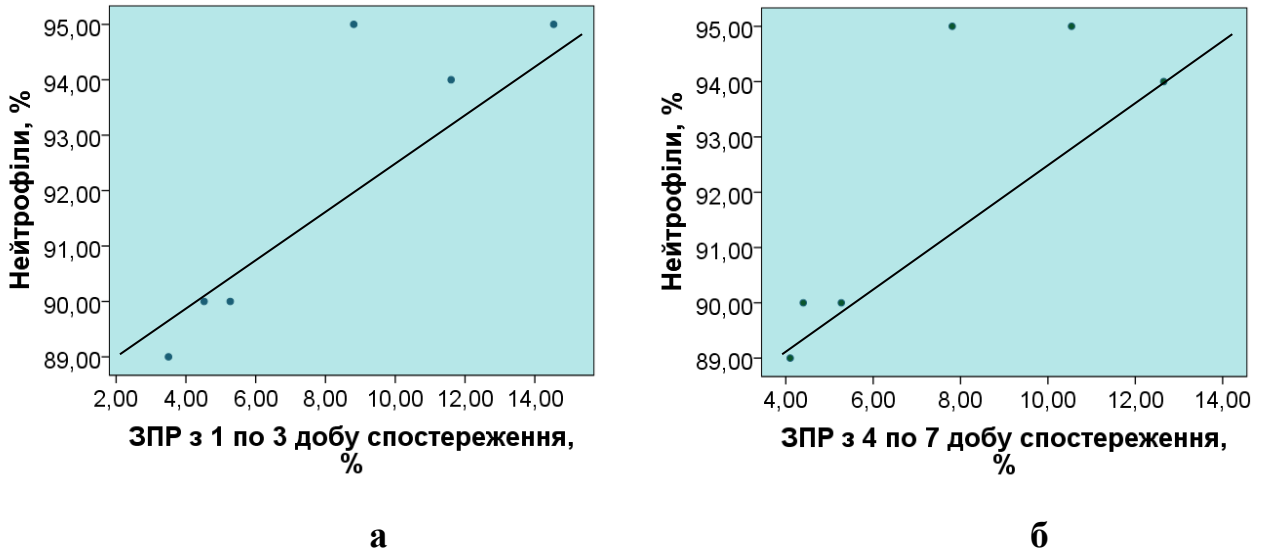


Рисунок 5.12 – Кореляційні зв'язки між відсотком нейтрофілів у тварин зрілого віку на 1-шу добу спостереження та динамікою ранового загоєння (а, б)

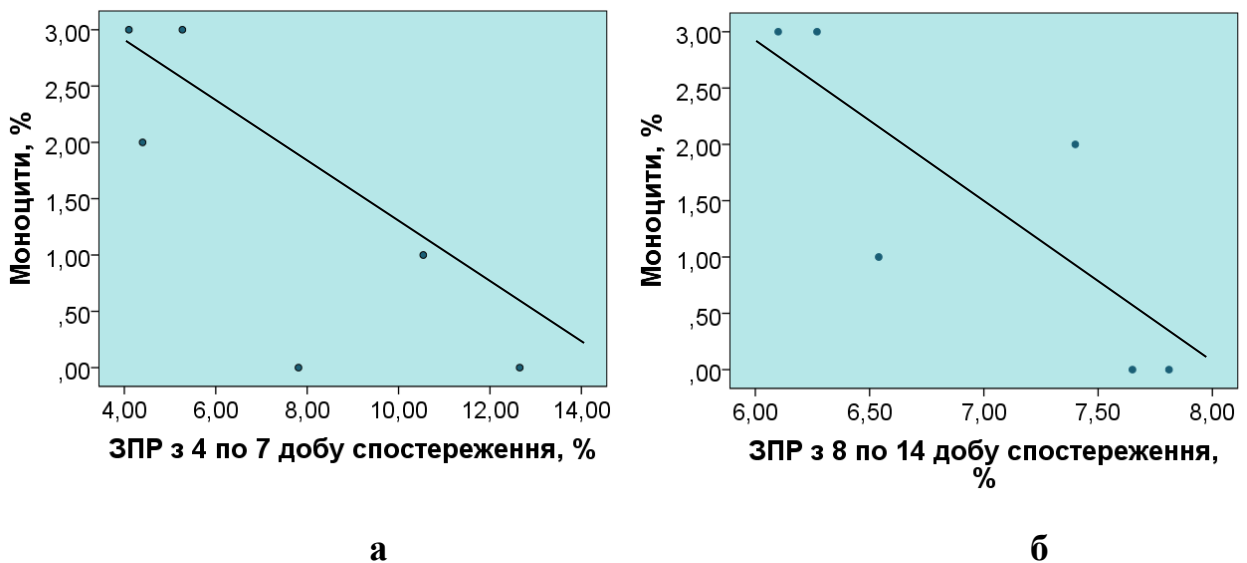


Рисунок 5.13 – Кореляційні зв'язки між відсотком моноцитів у тварин зрілого віку на 1-шу добу спостереження та динамікою ранового загоєння (а, б)

Цитологічна картина 3-ї доби дослідження характеризувалася, крім зменшення відсотка нейтрофілів та кількості лейкоцитів у полі зору у тварин усіх вікових груп, ще й достовірним збільшенням частки моноцитів та макрофагів у тварин молодого віку на 49,62 % ( $p \leq 0,05$ ) та 24,02 % ( $p \leq 0,05$ ), у тварин зрілого віку на 71,79 % ( $p \leq 0,05$ ) та 30,72 % ( $p \leq 0,05$ ), а й на 71,80 % ( $p \leq 0,05$ ) та 66,67 %

( $p \leq 0,05$ ) у тварин старечого віку, а також появою й зростанням кількості фібробластів та ендотеліоцитів у цих вікових групах порівняно з контролем. Так, відсоток полібластів виявився більшим під час застосування хітозану на 19,95 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого віку та на 35,36% ( $p \leq 0,05$ ) – у тварин зрілого віку. Рівень же фібробластів достовірно був більшим у тварин молодого віку на 45,36 % ( $p \leq 0,01$ ) порівняно з контролем, в той час як у тварин зрілого віку цей тип клітин був виявлений лише в експериментальній серії ( $0,67 \pm 0,21$ ) % (табл. А.9). Зменшення кількості запальних клітин у рані в цьому терміні спостереження відповідає результатам досліджень Burkatovskaya та співав., які обґрунтовували загальний позитивний ефект хітозанових покриттів, зокрема й антимікробною дією хітозану особливо на ранніх етапах ранового загоєння. Як показали *in vitro* дослідження L. Ma та співавт., а також Chang Jing та співавт. біосумісність хітозану, відсутність у його цитотоксичної дії забезпечують проліферацію фібробластів. Фактори росту ендотелію судин, що секретуються фібробластами, впливають на ангіонеогенез за рахунок активації ендотеліальних клітин-попередників, що пояснює паралельний ріст фібробластів та ендотеліоцитів. У тварин старечого віку в контрольній серії лише відбулася поява, а в експериментальній – зростання частки моноцитів, макрофагів і полібластів на 71,80 % ( $p \leq 0,05$ ), 66,67 % ( $p \leq 0,05$ ) та 28,64 % ( $p \leq 0,01$ ) відповідно за відсутності фібробластів та ендотеліоцитів як у контрольній, так й експериментальній серії. Вищеперелічені зміни та зменшення явищ деструктивного типу фагоцитозу характеризують цитограми цього терміну спостереження як перехідні від дегенеративно-запального до запального типу в контролі та запального – в експериментальній серії тварин молодого та зрілого віку й свідчать про дегенеративно-запальний тип у тварин старечого віку контрольної серії та позитивну динаміку на користь запального – в експерименті (табл. А.5).

Кореляційний зв'язок був виявлений у тварин молодого віку між часткою моноцитів на 1-шу добу та відсотком ЗПР 4–7-ї доби – ( $r = - 0,832$ ;  $p < 0,05$ ), а

також між відсотком цих клітин на 3-тю добу та ЗПР 1–3-ї доби у тварин зрілого віку – ( $r = -0,882$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.14 а, б).

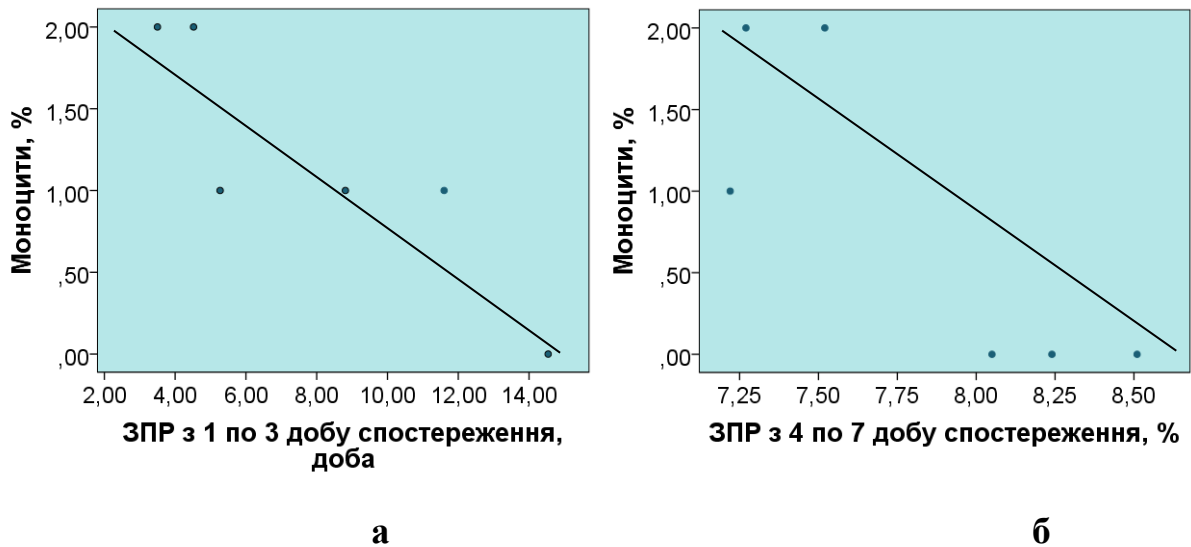


Рисунок 5.14 – Кореляційні зв'язки між відсотком моноцитів у тварин молодого віку на 1-шу (а) добу та у тварин зрілого віку на 3-тю добу (б) спостереження й динамікою ранового загоєння

Відсоток макрофагів 1-ї доби дослідження у тварин молодого віку мав негативну кореляцію з терміном початку епітелізації ( $r = -1,000$ ;  $p < 0,001$ ) та позитивну – з терміном повної епітелізації ( $r = 1,000$ ;  $p < 0,001$ ) (рис. 5.15 а, б). Таким чином, збільшення кількості макрофагів забезпечує активізацію очищення ранової поверхні та сприяє більш ранньому початку епітелізації, але на більш пізніх етапах загоєння затримує повну епітелізацію рани. Рівень лейкоцитів у тварин зрілого віку 3-ї доби спостереження мав прямий зв'язок з термінами очищення рани ( $r = 0,826$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.16 а), а відсоток лімфоцитів у тварин старечого віку в цьому терміні спостереження – прямий зв'язок із терміном початку крайової епітелізації ( $r = 1,000$ ;  $p < 0,001$ ) (рис. 5.16 б). Такі зв'язки демонструють, що зі збільшенням кількості лейкоцитів пришвидшується процес очищення ранової поверхні, проте довготривале збереження кількості запальних клітин затримує початок епітелізації.

7-ма доба дослідження виявила достовірно меншу кількість лейкоцитів у тварин усіх вікових груп – на 34,09 % ( $p \leq 0,05$ ), 21,88 % ( $p \leq 0,05$ ) та 36,36 % ( $p \leq 0,01$ ) відповідно до віку, однак частка нейтрофілів достовірно зменшилась лише у молодих та зрілих тварин – на 38,22 % ( $p \leq 0,01$ ) та на 45,89 % ( $p \leq 0,01$ ).

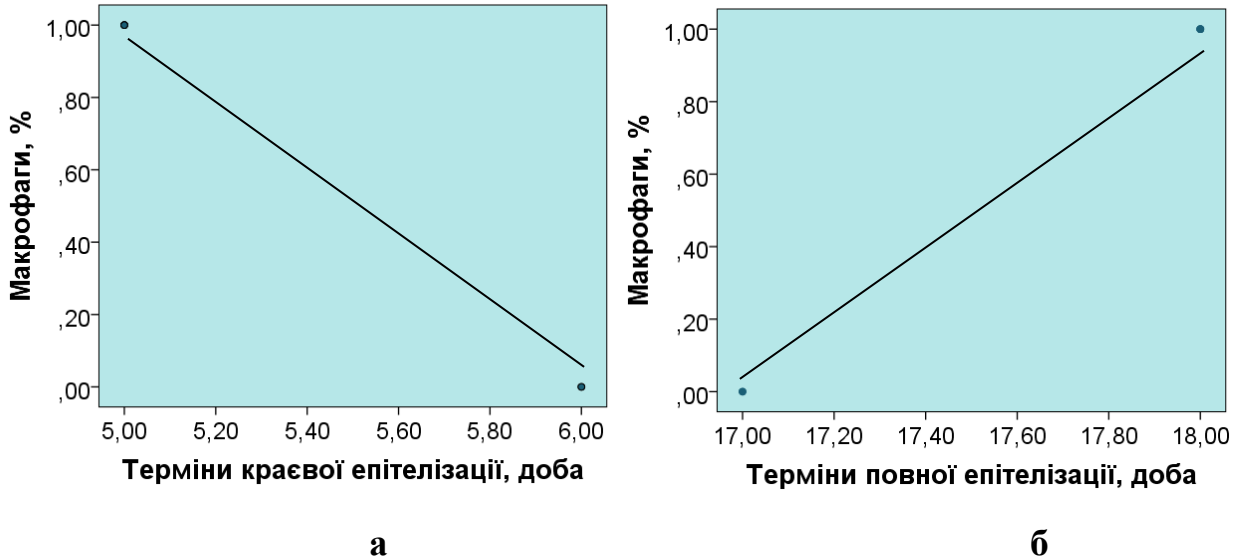


Рисунок 5.15 – Кореляційні зв'язки між відсотком макрофагів у тварин молодого віку на 1-шу (а) та 3-тю добу (б) спостереження та динамікою ранового загоєння

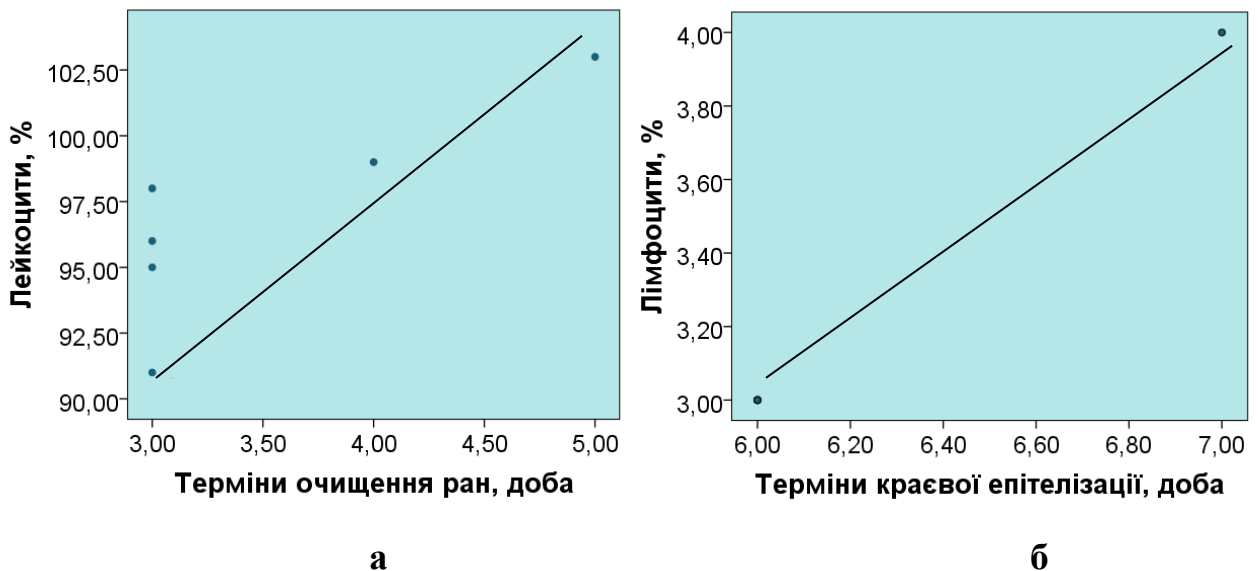


Рисунок 5.16 – Кореляційні зв'язки кількості лейкоцитів у тварин зрілого (а) та відсотка лімфоцитів у тварин старечого віку (б) на 3-тю добу спостереження з динамікою ранового загоєння

Застосування хітозанових плівок забезпечувало у тварин молодого віку достовірне зростання частки макрофагів, фібробластів та ендотеліоцитів відповідно на 23,29 % ( $p \leq 0,05$ ), 27,18 % ( $p \leq 0,05$ ) та 27,67 % ( $p \leq 0,05$ ), а у тварин зрілого віку на 25,65 % ( $p \leq 0,05$ ), 30,17 % ( $p \leq 0,05$ ) та 44,33 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.9). Активність макрофагів знижується з віком, і додаткова стимуляція клітин не є ефективною у щурів старечого віку. У тварин старечого віку достовірні зміни відбулися лише з відсотком фібробластів, що був на 19,14 % ( $p \leq 0,01$ ) більшою порівняно з контролем. Водночас відсоток інших представників макрофагально-моноцитарного та гістіоцитарного рядів хоча й виявився більшим в експериментальній серії, проте порівняно з контрольною серією не був достовірним. За даними R. Jayakumar та співавт., матеріали на основі хітину та хітозану активують фібробласти. Потрібно відмітити, що саме фібробласти здатні продукувати фактор росту сполучної тканини, який у свою чергу, стимулює трансформувальний ростовий фактор TGF- $\beta$ . Роль цього фактора полягає в стимуляції хемотаксису фібробластів та продукції ними колагену та фібронектину. Фібронектин, у свою чергу, відповідає за адгезію, рухливість, диференціювання та взаємну орієнтацію клітин.

Переважаючі завершені та незавершені типи фагоцитозу, поодинокі явища клітинної деструкції та нефагоцитованої мікрофлори у тварин молодого та зрілого віку експериментальної серії порівняно з контрольною, збереження істотної частки деструктивного типу фагоцитозу та позаклітинно розміщеної мікрофлори у тварин старечого віку дозволяють стверджувати про позитивний вплив хітозану на динаміку цитологічних змін. Так, якщо у тварин молодого та зрілого віку контрольною серією на підставі виявлених показників визначали запальний тип цитограми, а в експериментальній серії – перехід до запально-регенераторного, в той час як у групі тварин старечого віку спостерігався лише перехід до запального типу цитограм у контролі й повільніший, порівняно з тваринами інших вікових категорій, перехід до запально-регенераторного типу – при застосуванні хітозану (табл. А.5).



Подібні до попереднього терміну спостереження зв'язки спостерігались під час проведення кореляційного аналізу і в наступних термінах експерименту. Зі збільшенням відсотка нейтрофілів у тварин зрілого віку на 7-му добу збільшувалися терміни ранового очищення ( $r = 0,901$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.17 а), а у тварин старечого віку кількість лейкоцитів цього терміну спостереження корелювала з терміном повної епітелізації ( $r = 0,843$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.17 б).

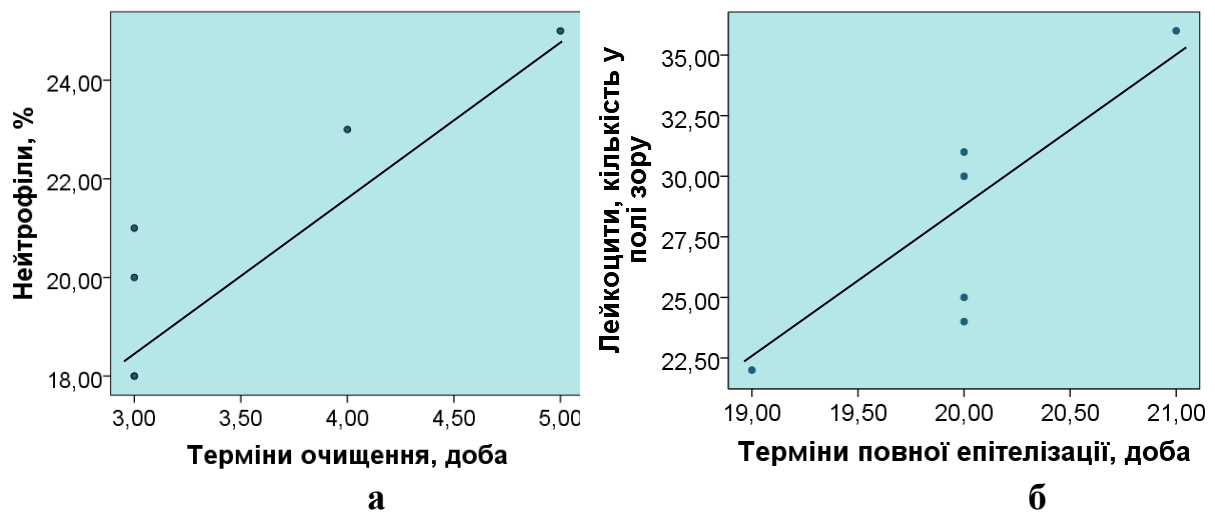


Рисунок 5.17 – Кореляційні зв'язки кількості лейкоцитів у тварин зрілого віку (а) та відсотка нейтрофілів у тварин старечого віку (б) на 7-му добу спостереження з динамікою ранового загоєння

Із 14-ї доби виявляються показники цитограм усіх вікових груп контрольної серії, характерні для перехідних до запально-регенераторного, а в експериментальній групі – для регенераторно-запального з ознаками переходу до регенераторного у тварин молодого та зрілого, та регенераторно-запального – у тварин старечого віку. Відбулося нівелювання вікових особливостей регенерації, яка обумовлювала відставання змін цитологічної картини у тварин старечого віку, що демонструвалося поступовим збільшенням частки як макрофагально-моноцитарних клітин, так і представників гістіоцитарного ряду в тварин усіх вікових груп контрольної серії порівняно із 7-ю добою спостереження. Проте застосування хітозану зумовило достовірне зростання відсотка макрофагів на

22,61 % ( $p \leq 0,05$ ), фібробластів – на 23,37 % ( $p \leq 0,05$ ), а ендотеліоцитів – на 39,94 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин молодого віку, а полібластів, фібробластів та ендотеліоцитів – відповідно на 11,03 % ( $p \leq 0,05$ ), 15,33 % ( $p \leq 0,05$ ) та 26,80 % ( $p \leq 0,05$ ) у тварин зрілого віку. Дія хітозану реалізується через вплив на макрофагальну ланку запально-репаративної реакції завдяки стимуляції клітинної міграції, а також активізації секреції цитокінів, що мають значення у міграції та активації фібробластів. У групі тварин старечого віку експериментальної серії достовірно більшою була частка лише макрофагів на 20,62 % ( $p \leq 0,05$ ) та фібробластів на 28,07 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.9). Така динаміка обумовлена здатністю макрофагів стимулювати проліферацію фібробластів, а також вивільняти фактори росту, що активують ангиогенез. Також цитограми експериментальної серії відрізнялися переважанням завершеного типу фагоцитозу, мікрофлора виявлялася в поодиноких випадках.

Кількість лейкоцитів у тварин зрілого віку та відсоток нейтрофілів у тварин молодого віку на 14-ту добу мали негативний кореляційний зв'язок з СерШЗРП – ( $r = -0,822$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = -0,866$ ;  $p < 0,05$ ) відповідно (рис. 5.18 а, б). Також зі збільшенням частки лімфоцитів в цьому терміні експерименту збільшувалися терміни появи грануляційної тканини у тварин зрілого віку ( $r = 0,877$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.18 в).

Цитологічне дослідження препаратів 21-ї доби спостереження виявило мінімальні значення кількості лейкоцитів у полі зору та частки нейтрофільних гранулоцитів, а також максимальні – фібробластів та ендотеліоцитів за весь період експерименту в тварин усіх вікових груп обох серій. Однак хітозанові мембрани викликали достовірне збільшення макрофагів та фібробластів відповідно у тварин молодого віку на 16,31 % ( $p \leq 0,05$ ) та 16,33 % ( $p \leq 0,05$ ), а у тварин зрілого віку – на 14,06 % ( $p \leq 0,05$ ) та 15,00 % ( $p \leq 0,05$ ) (табл. А.9).

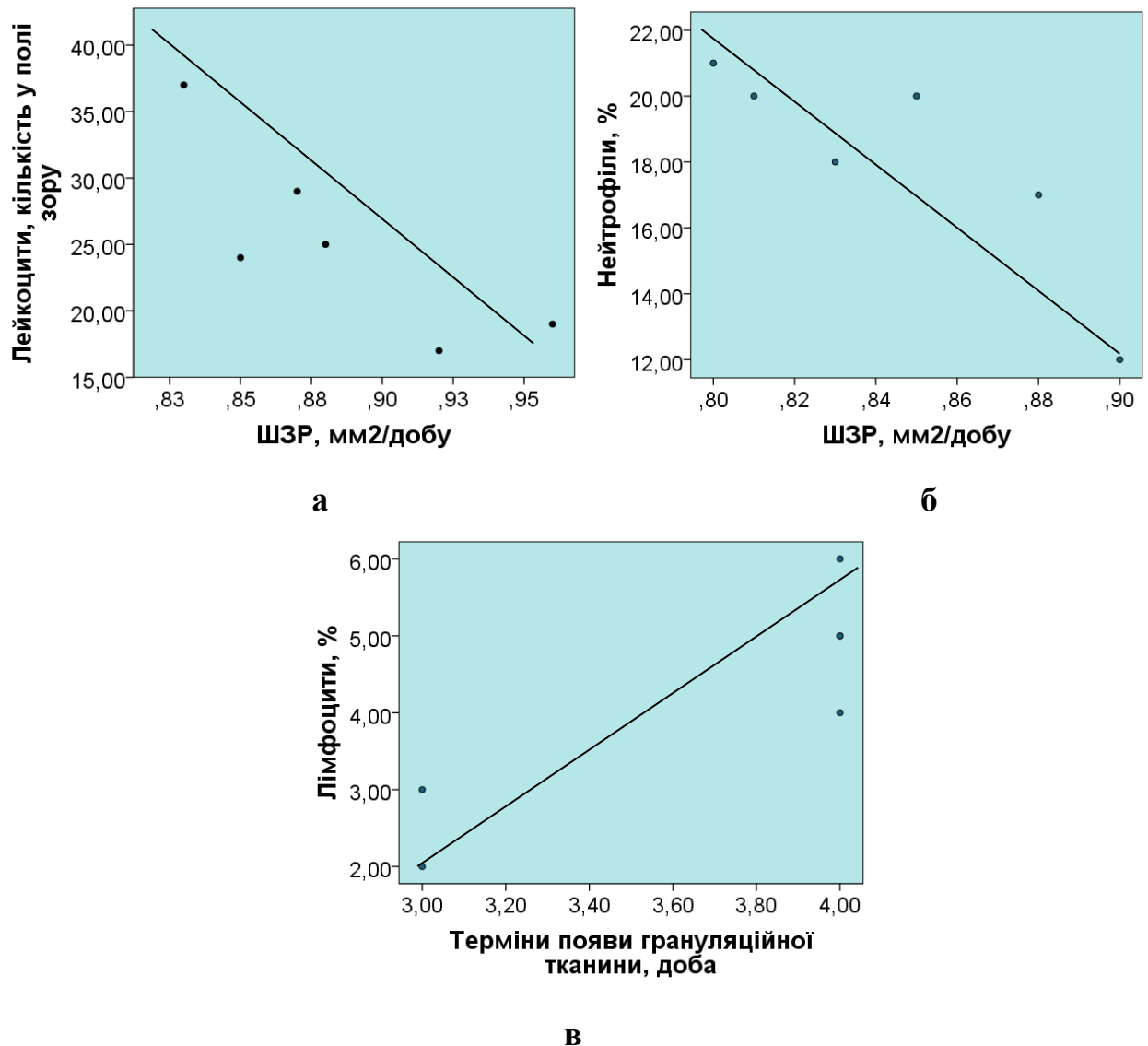


Рисунок 5.18 – Кореляційні зв'язки кількості лейкоцитів (а), відсотка нейтрофілів (б) та лімфоцитів (в) на 14-ту добу спостереження з динамікою ранового загоєння

Стимулювальний вплив на проліферацію був доведений на культурі фібробластів *in vitro*, а О. Yu. Rogulska та співавт., досліджуючи хітозанові матеріали з різним ступенем деацетилювання, встановили, що рівень адгезії мезенхімних стромальних клітин до поверхні носія та здатність до проліферації були значними саме до хітозанових матеріалів із високим DD. Крім того, на 21-шу добу експерименту у тварин зрілого віку на 25,36 % ( $p \leq 0,05$ ) достовірно зріс і відсоток ендотеліоцитів, в той час як у тварин старечого віку, незважаючи на позитивну динаміку, достовірної різниці в показниках макрофагально-моноцитарного та

гістіоцитарного компонентів виявлено не було. Підсумовуючи динаміку змін цитологічної картини, можна стверджувати про більш упевнений перехід до типового регенераторного типу цитогам у тварин молодого та зрілого віку порівняно зі старечим віковим періодом експериментальної серії.

Відсоток полібластів у тварин старечого віку на 14-ту добу, а у тварин зрілого віку на 21-шу добу корелювали зі СерШЗР – ( $r = -0,835$ ;  $p < 0,05$ ) та ( $r = 0,903$ ;  $p < 0,05$ ) відповідно (рис. 5.19 а, б). У тварин молодого віку був установлений зворотний кореляційний зв'язок між часткою фібробластів 21-ї доби спостереження та терміном повної епітелізації ранової поверхні ( $r = -0,832$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 5.19 в).

Такі взаємозв'язки обумовлені безпосередньою участю клітин гістіоцитарного походження та клітин сполучної тканини в процесі епітелізації й у кінцевому підсумку, прискоренні процесу ранового загоєння. Проте у тварин старечого віку ці зв'язки нівелювалися віковими особливостями процесу регенерації, а збереження значної кількості фібробластів на етапі ремоделювання може викликати уповільнення ранового загоєння навіть у тварин молодого віку.

Значущість різниці цитологічних показників у динаміці термінів спостереження за даними двофакторного рангового дисперсійного аналізу Фрідмана була ймовірною з вірогідністю похибки  $p < 0,01$  для таких показників: кількість лейкоцитів у полі зору, відсоток нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів, фібробластів та ендотеліоцитів для тварин усіх вікових груп. Різниця у відсотковому вмісті полібластів виявилася достовірною ( $p < 0,01$ ) у тварин молодого та зрілого віку (табл. А.9). Дані Н-тесту Крускала-Уоліса продемонстрували, що різниця в кількості лейкоцитів у тварин різних вікових груп була достовірною в усіх термінах спостереження, крім 21-ї доби. Для відсоткового вмісту нейтрофілів достовірною різниця виявилася на 1-шу, 3-тю та 7-му доби експерименту. Ймовірність помилки на рівні  $p < 0,05$  визначилася для частки лімфоцитів лише на 1-шу добу, для частки полібластів – на 3-тю добу, для фібробластів – на 3-тю та 7-му доби експерименту. Для моноцитів та

ендотеліоцитів достовірної різниці між показниками тварин різних вікових груп встановлено не було (табл. А.9).

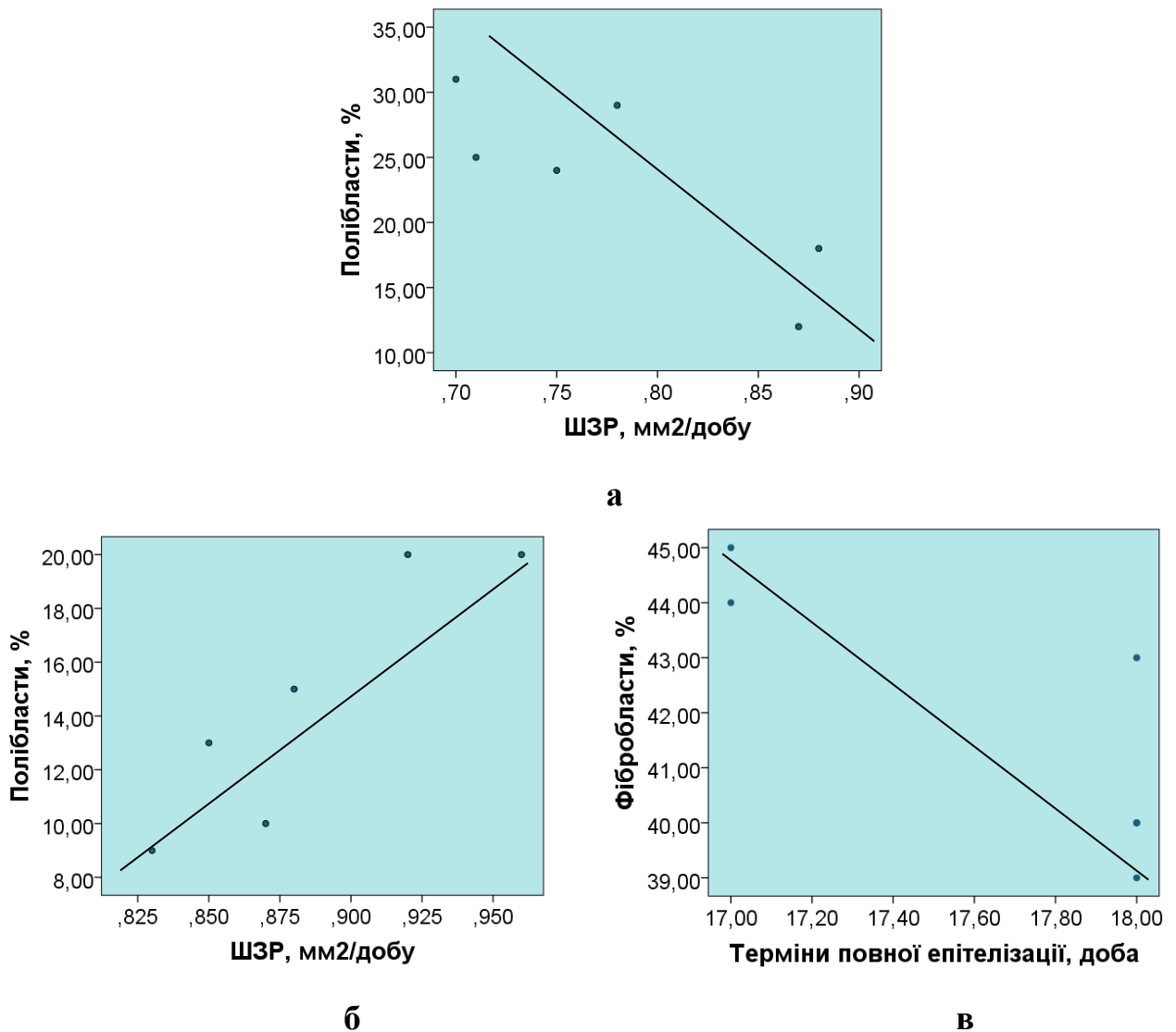


Рисунок 5.19 – Кореляційні зв'язки відсотку полібластів у тварин старечого на 14-ту добу (а), у тварин зрілого віку на 21-шу добу (б) та фібробластів у тварин молодого віку на 21-шу добу спостереження (в) із динамікою ранового загоєння

Таким чином, урахувавши дані літератури та результати проведених досліджень, ефекти дії хітозану можна поділити на загальні та місцеві (рис. 5.20). Серед загальних механізмів дії потрібно звернути увагу на біосумісність,

відсутність токсичної дії та біодеградацію, що дозволяє використовувати ці матеріали як засоби медичного призначення. Важливими також є наявність легкого знеболювального ефекту, гемостатичні та антиоксидантні властивості.

Місцеві ефекти хітозанових матеріалів спрямовані безпосередньо на поверхню рани, що призводить до її більш швидкого загоєння. Хітозанові плівки створюють механічний бар'єр, запобігаючи вторинному інфікуванню поверхні рани. Крім того, плівки, що використовувалися в цьому експерименті, є прозорими, що дає можливість постійного моніторингу за станом ранової поверхні. Еластичність хітозанових мембран дозволяє моделювати рельєф будь-якої складності без використання перев'язувальних матеріалів.

Матеріали на основі хітозану здатні сорбувати надлишок ексудату без висихання поверхні рани та оптимізувати паро- та газообмін із навколишнім середовищем. Зазначені ефекти створюють оптимальне середовище для міграції клітин і зменшують мікробне навантаження.



Рисунок 5.20 – Властивості хітозанових матеріалів

Хітозан має антибактеріальний ефект по відношенню до грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а також грибків. У нашій роботі використовувався високомолекулярний хітозан, який, зв'язуючись із іонами металів, що знаходяться в комплексі зі структурними компонентами клітинної стінки бактерій, порушує іонний баланс клітини, викликаючи порушення бар'єрної функції мембрани.

У процесі біодеградації вивільняються продукти деградації, що впливають на клітинне оточення рани, – стимулюють міграцію нейтрофілів та макрофагів в осередок запалення, що приводить до більш швидкого очищення рани від детриту й зменшення мікробного навантаження. Відбувається активізація фагоцитарної активності, що підсилює антимікробний ефект. Олігосахариди, що утворюються в процесі деградації, стимулюють міграцію моноцитів із кров'яного русла з подальшою трансформацією їх у макрофаги.

У фазу проліферації олігомери хітозану здатні впливати на кількість та активність фібробластів, що пришвидшує утворення сполучної тканини, – ініціюють проліферацію фібробластів, що спричиняє збільшення щільності клітин на одиницю площі рани. У працях К. Коїїма та співавт., а також R. A. Muzzarelli доведено, що хітозан стимулює синтез колагену IV типу і його упорядковане депонування. Це пояснює зменшення площі рубцевої тканини у тварин при використанні хітозану. Також він здатен стимулювати проліферацію ендотеліоцитів, що сприяє утворенню нових капілярів.

Із віком відбувається зниження чутливості клітин до ефекторних впливів, що може пояснити меншу ефективність хітозану у тварин старечого віку в нашому експерименті.

На тканинному рівні ефекти впливу на клітини регенерату виявляються в активізації процесів очищення рани, стимуляції формування та дозрівання грануляційної тканини, сприянні неоангіогенезу та активізації процесів епітелізації.



## ВИСНОВКИ

1. У процесі репаративної регенерації відзначається затримка змін типу цитограм від некротичного до регенераторного у тварин старечого віку, що обумовлено віковими особливостями ранового загоєння як у фазі запалення, так і на етапах проліферації та ремоделювання. Формування тканин регенерату починається на  $(4,33 \pm 0,09)$  добу у тварин молодого, на  $(4,50 \pm 0,22)$  добу – зрілого віку та на  $(5,00 \pm 0,26)$  добу – старечого віку контрольної серії. У період з 8-ї до 14-ї доби спостереження відзначається максимальний відсоток зменшення площі рани у тварин усіх вікових груп, проте середня швидкість зменшення рани помітно відстає у групі тварин старечого віку. Повна епітелізація опікової поверхні відбувається на 19–20-у доби у щурів усіх вікових періодів контрольної серії. На 21-шу добу після моделювання опікової рани спостерігається виникнення рубцевої тканини, що особливо виражене у тварин старечого віку.

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

3. Застосування хітозанових мембран викликає зменшення кількості лейкоцитів та відсотка нейтрофілів у тварин молодого та зрілого віку з 1-ї доби спостереження, в той час як у тварин старечого віку цей показник мав достовірну

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

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

5. Проведений кореляційний аналіз установив наявність зворотного зв'язку кількості лейкоцитів на 1-шу добу спостереження у тварин зрілого віку з термінами очищення та повної епітелізації рани ( $r = -0,853$ ) та ( $r = -0,89$ ), при цьому частка нейтрофільних гранулоцитів мала позитивний зв'язок із відсотком зменшення площі рани 1–3-ї та 4–7-ї діб спостереження ( $r = 0,902$ ) та ( $r = 0,841$ ). Збільшення кількості запальних клітин, забезпечуючи активізацію очищення ранової поверхні, сприяє більш ранньому початку епітелізації, однак на більш пізніх етапах загоєння затримує повну епітелізацію рани. Установлено, що стромальний набряк уповільнює динаміку загоєння опіку, збільшуючи терміни очищення, появи грануляційної тканини та епітелізації рани. Більший за площею опік має повільнішу динаміку загоєння, проте збільшення площі епітелію регулює процеси грануляції та епітелізації, ймовірно, за механізмом контактної інгібіції.

## ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Миронов В. И. Раневой процесс: современные аспекты патогенеза / В. И. Миронов, И. И. Гилёва // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 6. – С. 20–26.
2. Твердохліб І. В. Визначення ступеня інволютивних змін шкіри обличчя на основі морфологічних критеріїв та за допомогою апарату «Light Check-up» / І. В. Твердохліб, О. І. Макарчук // Морфологія. – 2010. – Т. IV, № 4. – С. 57–66.
3. Зятковська О. Я. Патогенетична роль перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в умовах комбінованої травми / О. Я. Зятковська // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 2. – С. 50–55.
4. Кризина П. С. Нові лікарські засоби широкого спектра дії на основі нанодисперсних феромагнетичних порошоків для місцевого лікування ран / П. С. Кризина // Україна. Здоров'я нації. – 2007. – № 3–4. – С. 188–190.
5. Шень Н. П. Ожоги у детей / Н.П. Шень // М. : Триада-Х. – 2011. – С. 148.
6. Крамар С. В. Гістологічні та гістохімічні зміни ушкодженої ділянки шкіри в динаміці після експериментальної термічної травми / С. В. Крамар, К. С. Волков, А. О. Котик // Світ медицини та біології. – 2014. – Т. 10, № 4 (46). – С. 182–185.
7. Adam J. S. Current Management of Acute Cutaneous Wounds / J. S. Adam, A. V. Dagum // N. Engl . J. Med. – 2008. – Vol. 359. – P. 1037–1046.
8. Фисталь Э. Я. Принципы местного лечения ожоговых ран / Э. Я. Фисталь, В.В. Солошенко, Н. Н. Фисталь [и др.] // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2009. – № 6. – С. 38–39.
9. Фісталь Н. М. Лікування опікових реконвалесцентів: сучасний стан проблеми / Н. М. Фісталь // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 94–99.
10. Звягинцева Т. В. Морфологические изменения кожи морских свинок после локального ультрафиолетового облучения при применении лекарственных средств с

фотопротекторной активностью / Т. В. Звягинцева, В. В. Гринь, О. В. Наумова // Медицина сьогодні і завтра. – 2013. – № 1 (58). – С. 59–63.

11. Нетюхайло Л. Г. Взаємозв'язок між клітинами ушкодженої шкіри при експериментальній опіковій хворобі / Л. Г. Нетюхайло // Молодий вчений. – 2014. – № 3 (06). – С. 144–145.

12. Кризина П. С. Патоморфологічні зміни в опіковій рані / П. С. Кризина, О. В. Письменна // Україна. Здоров'я нації. – 2011. – № 1. – С. 93–97.

13. Krishna Vyas S. Wound Healing: Biologics, Skin Substitutes, Biomembranes and Scaffolds / Krishna S. Vyas, Henry C. Vasconez // Healthcare. – 2014. – Vol. 2 (3). – P. 356–400.

14. Use of chitosan/polyamine biopolymers based cotton as a model system to prepare antimicrobial wound dressing / M. G. Moustafa, R. Fouada, D. Wittke [et al.] // Schollmeyer International Journal of Diabetes Mellitus. – 2009. – Vol. 1. – P. 61–64.

15. Волков К. С. Ультраструктура ксено- та аутодермотрансплантатів при низькотемпературному зберіганні та кріоконсервуванні / К. С. Волков, Г. П. Чабан, Л. Я. Федонюк // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 2. – С. 32–34.

16. Hnin-Ei T. Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing / T. Hnin-Ei, Z. Mohd Hanif, N. Shioh-Fern // International Journal of Pharmaceutics. – 2012. – Vol. 434. – P. 375–383.

17. Harish Prashanth K. V. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential / K. V. Harish Prashanth, R. N. Tharanathan // Trends in Food Scie. Tech. – 2007. – Vol. 18. – P. 117–131.

18. Honarkar H. Applications of biopolymers I: chitosan / H. Honarkar, M. Barikani // Monatsh Chem. – 2009. – Vol. 140. – P. 1403–1420.

19. Francesko A. Chitin, Chitosan and Derivatives for Wound Healing and Tissue Engineering / A. Francesko, T. Tzanov // Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology. – 2011. – Vol. 125. – P. 1–27.

20. Development of N, O-(carboxymethyl) chitosan/collagenmatrixes as a wound dressing / R. N. Chen, G. M. Wang, C. H. Chen [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2006. – Vol. 7. – P. 1058–1064.

21. Fabrication, structure, and properties of chitin whisker-reinforced alginate nanocomposite fibers / A. Watthanaphanit, P. Supaphol, H. Tamura [et al.] // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2008. – Vol. 110. – P. 890.

22. 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.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2008. – Vol. 84A. – P. 1006–1017.

23. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties / Shin-Yeu Ong, Jian Wu, Shabbir M. Moochhala [et al.] // *Biomaterials*. – 2008. – Vol. 29 – P. 4323–4332.

24. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns / N. Boucard, C. Vitona, D. Agayb [et al.] // *Biomaterials*. – 2007. – Vol. 28. – P. 3478–3488.

25. Evaluation of Cell Growth Characteristics on Chitosan-Alginate Membranes to Assess Their Potential Application on Highly Exuding Skin Lesions and In Vivo Evaluation in Wounded Cat / A. P. Rodrigues, S. C. Genari, N. M. Paulo // *Cells and Culture ESACT Proceedings*. – 2010. – Vol. 4. – P. 789–794.

26. Ramos-e-Silva M. Effects of age (neonates and elderly) on skin barrier function / M. Ramos-e-Silva, J. C. Boza , T. F.Cestari // *Clinics in Dermatology*. – 2012. – Vol. 30, № 3. – P. 274–276.

27. Elias Peter M. The skin barrier as an innate immune element / Peter M. Elias // *Semin. Immunopathol.* – 2007. – Vol. 29. – P. 3–14.

28. Reinke J. M. Wound Repair and Regeneration / J. M. Reinke, H. Sorg // *Eur. Surg. Res.* – 2012. – Vol. 49. – P. 35–43.

29. Соколовский Е. В. Кожные и венерические болезни: учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов. / Е. В. Соколовский. – СПб. : Фолиант, 2008. – 520 с.

30. Burn Wound Infections / D. Church, S. Elsayed, O. Reid [et al.] // *Clinical microbiology reviews*. – 2006. – P. 403–434.
31. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review / J. S. Boateng, K. H. Matthews, Howard N. E. Stevens [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2008. – Vol. 97, № 8. – P. 2892-2923.
32. Lu S. BurnWound Healing / S. Lu // *Chinese Burn Surgery*. – 2015. – P. 207–248.
33. Чепурненко М. Н. Источники посттравматической регенерации эпителия кожи [электронный ресурс] / М. Н.Чепурненко // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2006. – №2 (4). – С. 29–31. — Режим доступа к ресурсу : <http://www.cyberleninka.ru/articles/2003/03klinko.htm>
34. Blanpain C. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin / C. Blanpain, E. Fuchs // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 10 (3). – P. 207–217.
35. Парамонов Б. А. Ожоги : руков. для врачей / Б. А. Парамонов, Я. О. Порембский, В. Г. Яблонский. – СПб. : СпецЛит., 2000. – 480 с.
36. Бігуняк В. В. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
37. Orgill D. P. Excision and Skin Grafting of Thermal Burns / D. P. Orgill // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 893–901.
38. The relative thermal stability of tissue macromolecules and cellular structure in burn injury / F. Despa, D. P. Orgill, J. Neuwalder [et al.] // *Burns*. – 2005. – Vol. 31. – P. 568–577.
39. Pathophysiology of burns / M. Keck, D. H. Herndon, L. P. Kamolz [et al.] // *Wien Med. Wochenschr.* – 2009. – Vol. 159, № 13–14. – P. 327–336.
40. Ten year experience of burn, trauma, and combined burn/trauma injuries comparing outcomes / J. M. Santaniello, F. A. Luchette, T. J. Esposito [et al.] // *J. Trauma*. – 2004. – Vol. 57. – P. 696–700.

41. Drigalla D. Burns and smoke inhalation / D. Drigalla, J. Gemmill // *Current diagnosis and treatment: emergency medicine* / R. L. Humphries, C. K. Stone. – 7<sup>th</sup> ed. – New York : McGraw-Hill, 2008. – P. 836–848.

42. Evers L. H. The biology of burn injury / L. H. Evers, D. Bhavsar, P. Maila // *Experimental Dermatology*. – 2010. – Vol. 19. – P. 777–783.

43. Growth factors and cytokines in wound healing / S. Barrientos, O. Stojadinovic, M. S. Golinko [et al.] // *Wound Rep. Reg.* . – 2008 – Vol. 16. – P. 585–601.

44. Schmidt B. A. Intradermal adipocytes mediate fibroblast recruitment during skin wound healing / B. A. Schmidt, V. Horsley // *Development*. – 2013. – Vol. 140. – P. 1517–1527.

45. 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.

46. Данилов Р. К. Раневой процесс: гистогенетические основы / Р. К. Данилов. – СПб. : ВМедА, 2008. – 380 с.

47. Имашева А. К. Особенности регенераторных процессов кожи при термических ожогах [электронный ресурс] / А. К. Имашева, М. В. Лазько // *Успехи современного естествознания*. – 2008. – № 7. – С. 27–29. – Режим доступа к ресурсу : <http://www.cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-regeneratornyh-protsessov-kozhi-pri-termicheskikh-ozhogah>.

48. Arun M. / Herbal Boon For Wounds / M. Arun, S. Satish, P. Anima // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2013. – Vol. 5 (2). – P. 1–12.

49. Wound repair and regeneration / G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 453. – P. 314–321.

50. Nguyen D. T. The Pathophysiologic Basis for Wound Healing and Cutaneous Regeneration / D. T. Nguyen, D. P. Orgill, G. F. Murphy // *Biomaterials For Treating Skin Loss*, 1st Edition. / –Woodhead Publishing (UK/Europe) and CRC Press (US), Cambridge/Boca Raton, 2009. – P. 25–57.

51. Longaker M. T. Introduction: wound repair / M. T. Longaker, G. C. Gurtner // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 23. – P. 945.

52. Metcalfe A. D. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration / A. D. Metcalfe, Mark W. J. Ferguson // *J. R. Soc. Interface.* - 2007. – Vol. 4. – P. 413–437.

53. Алейник Д. Я. Продукция медиаторов воспаления у пострадавших с ожоговой травмой и постожоговыми рубцами / Д. Я. Алейник, Н. А. Гординская, И. Н. Чарыкова // *Иммунология.* – 2007. – Т. 28, № 4. – С. 234–235.

54. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment / G. S. Schultz, J. M. Davidson, R. S. Kirsner [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2011. – Vol. 19 (2). – P. 134–148.

55. Пинегин Б. В. Нейтрофилы: структура и функции / Б. В. Пинегин, А. Н. Маянский // *Иммунология.* – 2007. – № 6. – С. 374–382.

56. Velnar T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // *J. Int. Med. Res.* – 2009. – Vol. 37 (5). – P. 32–39.

57. Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation / M.A. Ingersoll, A.M. Platt, S. Potteaux [et al.] // *Trends in immunology.* – 2011. – Vol. 32 (10). – P. 470–477.

58. Ferguson M. W. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention / M. W. Ferguson, S. O’Kane // *Phil. Trans. R. Soc. B.* – 2004. – Vol. 359. – P. 839–850.



59. Macrophages in skin injury and repair / B. Mahdavian Delavary, W. M. van der Veer, M. van Egmond [et al.] // *Immunobiology*. – 2011. – Vol. 216 (7). – P. 753–762.
60. Quan T. E. The role of circulating fibrocytes in fibrosis / T. E. Quan, S. E. Cowper, R. Bucala // *Curr. Rheumatol. Rep.* – 2006. – Vol. 8. – P. 145–150.
61. Bayat A. Skin scarring / A. Bayat, D. A. McGrouther, M. W. Ferguson // *Br. Med. J.* – 2003. – Vol. 326. – P. 88–92.
62. Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair / B. Hinz // *J. Invest. Dermatol.* – 2007. – Vol. 127 (3). – P. 526–537.
63. Advanced biofabrication strategies for skin regeneration and repair / R. F. Pereira, C. C. Barrias, P. L. Granja [et al.] // *Nanomedicine (Lond)*. – 2013. – Vol. 8 (4). – P. 603–621.
64. Induction of vascular endothelial growth factor by fibrin as a dermal substrate for cultured skin substitute / M. Hojo, S. Inokuchi, M. Kidokoro [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2003. – Vol. 111. – P. 1638–1645.
65. Guo S. Factors affecting wound healing / S. Guo, L. A. Dipietro // *J. Dent. Res.* – 2010. – Vol. 89 (3). – P. 219–229.
66. VEGF and angiopoietin-1 stimulate different angiogenic phenotypes that combine to enhance functional neovascularization in adult tissue / A. V. Benest, A. H. Salmo, W. Wang [et al.] // *Microcirculation*. – 2006. – Vol. 13. – P. 423–437.
67. Identification of fibrocytes in postburn hypertrophic scar / L. Yang, P. G. Scott, C. Dodd [et al.] // *Wound Repair. Regen.* – 2005. – Vol. 13. – P. 398–404.
68. Bielefeld K. A. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration / K. A. Bielefeld, S. Amini-Nik, B. A. Alman // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2013. – Vol. 70. – P. 2059–2081.
69. Wu M. Growth and remodelling for profound circular wounds in skin / M. Wu, M. Ben Amar // *Biomech. Model. Mechanobiol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 357–370.
70. Regeneration or scarring: an immunologic perspective / M. Harty, A. W. Neff, M. W. King [et al.] // *Dev. Dyn.* – 2003. – Vol. 226. – P. 268–279.

71. Ogawa R. Histologic analysis of keloids and hypertrophic scars / R. Ogawa, S. Akaishi, M. Izumi // *Ann. Plast. Surg.* – 2009. – Vol. 62. – P. 104–105.

72. Butler C. E. Simultaneous in vivo regeneration of neoderms, epidermis, and basement membrane / C. E. Butler, D. P. Orgill // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 94. – P. 23–41.

73. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: an objective histopathological analysis / P. D. Verhaegen, P. M. van Zuijlen, N. M. Pennings [et al.] // *Wound Rep. Regen.* – 2009. – Vol. 17. – P. 649–656.

74. 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.

75. Macrophage pro-inflammatory activation and deactivation: a question of balance / A. F. Valledor, M. Comalada, L. F. Santamaría-Babi [et al.] // *Advances in Immunology.* – 2010. – Vol. 108. – P. 1–20.

76. Shankar R. Inflammation and sepsis: past, present, and the future / R. Shankar, K. A. Melstrom, R. L. Gamelli // *J. Burn Care Res.* – 2007. – Vol. 28. – P. 566–571.

77. Ogawa R. Animal models of keloids and hypertrophic scars / R. Ogawa // *Chin. J. Burn Care Res.* – 2008. – Vol. 29. – P. 1016–1017.

78. Scarless skin repair in immunodeficient mice / B. Gawronska-Kozak, M. Bogacki, J. S. Rim [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2006. – Vol. 14. – P. 265–276.

79. Izumi M. Histopathological findings of scars, hypertrophic scars, and keloids [электронный ресурс] / M. Izumi, A. Sugamata, R. Ogawa, S. Akaishi, H. Hyakusoku // *Papers of The 3rd Japan Scar Workshop, Kobe, Japan, 2008.* – Режим доступа до ресурсу: [http://www.scar-keloid.com/en/annual\\_meeting3.html](http://www.scar-keloid.com/en/annual_meeting3.html).

80. Eming S. A. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms / S. A. Eming, T. Krieg, J. M. Davidson // *J. Invest. Dermatol.* – 2007. – Vol. 127. – P. 514–525.

81. Mechanisms of pathological scarring: Role of myofibroblasts and current developments / V. Sarrazy, F. Billet, L. Micallef [et al.] // *Wound Rep. Reg.* – 2011. – Vol. 19. – P. 10–15.

82. Spyrou G. E. The effect of basic fibroblast growth factor on scarring / G. E. Spyrou, I. L. Naylor // *Br. J. Plast. Surg.* – 2002. – Vol. 55. – P. 275–282.

83. Barret J. P. Effects of burn wound excision on bacterial colonization and invasion / J. P. Barret, D. N. Herndon // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2003. – Vol. 111. – P. 744–750.

84. American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns / D. G. Greenhalgh [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2007. – Vol. 28 (6). – P. 776–790.

85. Distribution, organization and ecology of bacteria in chronic wounds / K. Kirketerp-Moller, P. O. Jensen, M. Fazli [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2008. – Vol. 46 (8). – P. 2717-2722.

86. Edwards R. Bacteria and wound healing / R. Edwards, K. G. Harding // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 17 (2). – P. 91–96.

87. Prospective analysis of nosocomial infection rates, antibiotic use, and patterns of resistance in a burn population / L. Wibbenmeyer [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2006. – Vol. 27 (2). – P. 152–160.

88. Микробный пейзаж ожоговых ран и проблема антибиотикорезистентности при использовании ксенотрансплантатов / Н. О. Старикова, Д. А. Докашенко, О. В. Вартамян // *Вестник неотложной и восстановительной медицины.* – 2005. – Т 6, № 2. – С. 261–264.

89. Zulkowski K. Skin bacteria: implications for wound care / K. Zulkowski // *Adv. Skin Wound Care.* – 2013. – Vol. 26 (5). – P. 231–236.

90. Wysocki A. B. Evaluating and managing open skin wounds: colonization versus infection / A. B. Wysocki // *AACN Clin.* – 2002. – Vol. 13. – P. 382–397.

91. Pangilinan R. Topical antibiotic treatment for uncomplicated skin and skin structure infections: review of the literature / R. Pangilinan, A. Tice, G. Tillotson // *Exp. Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2009. – Vol. 7 (8). – P. 957–965.

92. Bacteriology of war wounds at the time of injury / C. K. Murray, S. A. Roop, D. R. Hoshpenthal [et al.] // *Mil. Med.* – 2006. – Vol. 171. – P. 826–829.

93. Взаимодействие иммунцитов в репаративной регенерации кожи / И. В. Рева, Г. В. Рева, Т. Ямамото [и др.] // *Фундаментальные исследования.* – 2013. – № 9. – С. 453–459.

94. Greenhalgh D. G. Management of the skin and soft tissue in the geriatric surgical patient (Review) / D. G. Greenhalgh // *Surgical Clinics of North America.* – 2015. – Vol. 95 (1). – P. 103–114.

95. Callaghan T. M. A Review of Ageing and an Examination of Clinical Methods in the Assessment of Ageing Skin, Part I: Cellular and Molecular Perspectives of Skin Ageing / T. M. Callaghan, K. P. Wilhelm // *Int. J. Cosmetic Sci.* – 2008. – Vol. 30. – P. 313–322.

96. Абаев Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. – Ростов н/Д : Феникс, 2006. – 427 с.

97. Biofilms in chronic wounds / G. A. James, E. Swogger, R. Wolcott [et al.] // *Wound Rep. Reg.* – 2008. – Vol. 16 (1). – P. 37–44.

98. Фисталь Э. Я. Комбустиология / Э. Я. Фисталь, Г. П. Козинец. – Донецк, 2006. – 236 с.

99. Алексеев А. А. Лечение поверхностных и пограничных ожоговых ран с применением современных раневых повязок / А. А. Алексеев, А. Э. Бобровников, С. Н. Хунафин // *Медицинский вестник Башкортостана.* – 2013. – Том 8, № 3. – С. 25–30.

100. Saffle J. R. Closure of the excised burn wound: temporary skin substitutes / J. R. Saffle // *Clinics In Plastic Surgery.* – 2009. – Vol. 36. – P. 627–641.

101. Schaum K. D. Should it be coded as a dressing or as a dermal/epidermal (substitute) tissue? / K. D. Schaum // *Adv. Skin Wound Care.* – 2008. – Vol. 21, № 7. – P. 317–321.
102. Герасимова Л. И. Термические и радиационные ожоги / Л. И. Герасимова. – М. : Медицина, 2005. – 365 с.
103. Singer A. J. Current management of acute cutaneous wounds / A. J. Singer, A. B. Dagum // *The New England Journal of Medicine.* – 2008. – Vol. 359. – P. 1037–1046.
104. Hermans M. H. Results of an internet survey on the treatment of partial thickness burns, fullthickness burns, and donorsites / M. H. Hermans // *Journal of Burn Care and Rehabilitation.* – 2007. – Vol. 28. – P. 835–847.
105. Sweeney I. R. Critical review of modern and emerging absorbent dressings used to treat exuding wound / I.R. Sweeney, M. Mirafteb, G.A. Collyer // *Int. Wound J.* – 2012. – Vol. 9. – P. 601–612.
106. Поварихина О. А. Современные раневые покрытия в комбустиологии / О. А. Поварихина // *Новое медицинское оборудование.* – 2007. – № 3. – С. 31.
107. Mattioli-Belmonte M. Chitin nanofibrils linked to chitosan glycolateas spray, gelland gauze preparations for wound repair / M. Mattioli-Belmonte, A. Zizzi, G. Lucarini et al // *J. Bioact.Comp.Polym.* – 2007. – Vol. 22. – P. 525–553.
108. Шин Ф. Е. Фотодинамическая терапия экспериментальных ожоговых ран / Ф. Е. Шин, П. И. Стрельников, Е. Ф. Странадко // *Лазерная медицина.* – 2009. – № 13. – С. 55–60.
109. 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.
110. 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.

111. Алексеев А. А. Актуальные вопросы организации и состояние медицинской помощи пострадавшим от ожогов в РФ / А. А. Алексеев, В. А. Лавров // Избранные труды по комбустиологии. – Саратов : Научная книга, 2009. – С. 8–18.

112. Раневые покрытия – важный компонент местного консервативного лечения ожогов / А. Л. Адмакин, В. О. Сидельников, В. А. Максюта [и др.] // Тезисы докладов III съезда комбустиологов России. – М., 2010. – С. 158.

113. Шаповалов С. Г. Современные раневые покрытия в комбустиологии / С. Г. Шаповалов // Фарминдекс-Практик. – 2005. – № 8. – С. 38–46.

114. Pham C. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review / C. Pham [et al.] // Burns. – 2007. – Vol. 33, № 8. – P. 946–957.

115. Wolcott R. The role of biofilms: are we hitting the right target? / R. Wolcott, S. Dowd // Plast. Reconstr. Surg. – 2011. – Vol. 127 (1). – P. 28–35.

116. Большаков И. Н. Применение коллаген-хитозанового раневого покрытия с культурой эмбриональных фибробластов при местном лечении глубоких ожогов [электронный ресурс] / И. Н. Большаков, А. К. Кириченко, А. В. Еримеев [и др.] // Фундам. исслед. – 2008. – № 10. – С. 59–60. – Режим доступа к ресурсу : <http://www.cyberleninka.ru/article/n/primenenie-kollagenhitozanovogo-ranevogo-pokrytiya-s-kulturoy-embriionalnyh-fibroblastov-pri-mestnom-lechenii-glubokih-ozhogov>.

117. Preparation and characterization of hydroxypropylmethylcellulose films containing stable BCS Class II drug nanoparticles for pharmaceutical applications / L. Sievens-Figueroa, A. Bhakay, J. I. Jerez-Rozo [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2012. – Vol. 423 (2). – P. 496–508.

118. Максюта В. А. Сравнение эффективности раневых покрытий животного и синтетического происхождения после некрэктомии у пострадавших с глубокими ожогами / В. А. Максюта, Ю. Р. Скворцов, И. В. Чмырев [и др.] // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2012. – №3 (35). – С. 60–63.

119. Rivero A. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan / A. Rivero, M. A. Garcia, A. Pinotti // J. Food Eng. – 2009. – Vol. 90. – P. 531–539.

120. 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.

121. 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. – Vol. 70. – P. 784–789.

122. Novel biodegradable chitin membranes for tissue engineering applications / H. Nagahama, N. Nwe, R. Jayakumar [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2008. – Vol. 73. – P. 295–302.

123. Goossens A. New wound dressings: classification, tolerance / A. Goossens, M.-B. Cleenewerck // *Eur. J. Dermatol.* – 2010. – Vol. 20 (1). – P. 24–26.

124. Winter G. D. Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig / G. D. Winter // *Nature*. – 1962. – Vol. 193. – P. 293–294.

125. Winter G. D. The effect of air drying and dressings on the surface of a wound / G. D. Winter, J. T. Scales // *Nature*. – 1963. – Vol. 197. – P. 91.

126. McColl D. Real-time monitoring of moisture levels in wound dressings in vitro: An experimental study / D. McColl, B. Cartlidge, P. Connolly // *International Journal of Surgery*. – 2007. – Vol. 5. – P. 316–322.

127. The Role of Moisture Balance in Wound Healing / D. Okan, K. Woo, E. Ayello [et al.] // *Adv. Skin Wound Care*. – 2007. – Vol. 20. (1) – P. 39–53.

128. Ip M. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison / M. Ip, S.L. Lui, V. K. Poon // *J. Med. Microbiol.* – 2006. – Vol. 55. – P. 59–63.

129. Trial C. Assessment of the antimicrobial effectiveness of a new silver alginate wound dressing: a RCT / C. Trial, H. Darbas, J. P. Lavigne et al. // *J. Wound Care*. – 2010. – Vol. 19 (1). – P. 20–26.

130. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications / R. Jayakumar, M. Prabakaran, P. T. Sudheesh Kumar [et al.] // *Biotechnology Advances*. – 2011. – Vol. 29. – P. 322–337.

131. Fouda M. G. Use of chitosan/polyamine biopolymers based cotton as a model system to prepare antimicrobial wound dressing / M. G. Fouda, R. Wittke, D. Knittetal // *International Journal of Diabetes Mellitus*. – 2009. – Vol. 1. – P. 61–64.

132. Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing / Hnin-Ei Thu, Mohd Hanif Zulfakar, Shioh-Fern Ng [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2012. – Vol. 434. – P. 375–383.

133. Chitosan and alginate polyelectrolyte complex membranes and their properties for wound dressing application / Xin Meng, Feng Tian, Jian Yang [et al.] // *Mater Sci: Mater. Med*. – 2010. – Vol. 21. – P. 1751–1759.

134. 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.

135. Юсупова К. А. Некоторые свойства пленок хитозана разных химических форм / К. А. Юсупова, Д. А. Бузинова, А. Б. Шиповская // *Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине : матер. ежегодной Всероссийск. науч. школы-семинара*. – Саратов : Изд-во Саратовск. ун-та, 2009. – С. 185–188.

136. The next generation of burns treatment: intelligent films and matrix, controlled enzymatic debridement, and adult stem cells / H. Drago, G. H. Marin, F. Sturla [et al.] // *Transplantation Proceedings*. – 2010. – Vol. 42 (1). – P. 345–349.

137. Kaur S. The versatile biopolymer chitosan: potential sources, evaluation of extraction methods and applications / S. Kaur, G. S. Dhillon // *Critical reviews in microbiology*. – 2014. – Vol. 40 (2). – P. 155–175.

138. Dextran-based hydrogel containing chitosan microparticles loaded with growth factors to be used in wound healing / M. P. Ribeiro, P. I. Morgado, S. P. Miguel [et al.] // *Materials science & engineering C-materials for biological applications*. – 2013. – Vol. 33 (5). – P. 2958–2966.

139. Evaluation of healing activity of PVA/chitosan hydrogels on deep second degree burn: Pharmacological and toxicological tests / K. A. Nacer, M. Mohamed, T. Djamel [et al.] // *Burns*. – 2013. – Vol. 39 (1). – P. 98–104.



140. 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>.

141. 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>.

142. Chitin, Chitosan, and Its Derivatives for Wound Healing: Old and New Materials / К. Azuma, R. Izumi, T. Osaki [et al.] // *J. Funct. Biomater.* – 2015. – Vol. 6 (1). – P. 104–142.

143. Belgacem M. N. Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources, 1st ed. / M. N. Belgacem, A. Gandini. – Elsevier : London, 2008. – P. 560.

144. Балабаев В. С. Хитин и хитозан – материалы XXI века / В. С. Балабаев, Л. В. Антипова // *Успехи современного естествознания*. – 2012. – № 6. – С. 130.

145. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications / M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite [et al.] // *Progress in Polymer Science*. – 2011. – Vol. 36 (8). – P. 981–1014.

146. Суходуб Л. Ф. Хитозан для медицинского использования (обзор литературы) / Л. Ф. Суходуб, Л. Суходуб // *J. Clin. Exp. Med. Res.* – 2014. – Vol. 2 (2). – P. 143–152.

147. Kurita K. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans / К. Kurita // *Marine Biotechnology*. – 2006. – Vol. 8. – P. 203–226.

148. Никитенко П. Хитозан – полимер будущего / П. Никитенко, Л. Хрустицкая // *Наука и инновация*. – 2013. – № 9 (127). – С. 14–17.

149. Хитозан: структура и свойства. Использование в медицине / Ю. А. Петрович [и др.] // *Стоматология*. – 2008. – Т. 87, № 4. – С. 72–78.

150. Fan M. Preparation and structure of chitosan soluble in wide pH range / M. Fan, Q. Hu, K. Shen // *Carbohydrate Polymers*. – 2009. – Vol. 76 (1). – С. 66–71.

151. 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.

152. Шиповская А. Б., Островский Н. В., Бузинова Д. А. и др. Пленочные матрицы на основе хитозана: свойства и перспективы использования в комбустиологии / *Избранные труды по комбустиологии*. – Саратов : Научная книга, 2009. – С. 201–210.

153. Argin-Soysal S. Effect of complexation conditions on xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels / S. Argin-Soysal, P. Kofinas, Y. M. Lo // *Food Hydrocolloids*. – 2009. – Vol. 23. – P. 202–209.

154. Pillai C. K. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation / C. K. Pillai, W. Paul, C. P. Sharma // *Progress in Polymer Science*. – 2009. – Vol. 34 (7). – P. 641–678.

155. Alsarra I. A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds / I. A. Alsarra // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2009. – Vol. 45 (1). – P. 16–21.

156. Preparation and characterization of novel  $\alpha$ -chitin-hydroxyapatite composite membranes for tissue engineering applications / K. Madhumathi, N. S. Binulal, H. Nagahama [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 1–5.

157. Preparation of biodegradable chitin/gelatin membranes with GlcNAc for tissue engineering applications / H. Nagahama, T. Kashiki, N. Nwe [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2008. – Vol. 73. – P. 456–463.

158. Electrospinning of carboxymethylchitin/poly(vinylalcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications / K. T. Shalumon, N. S. Binulal, N. Selvamurugan [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2009. – Vol. 77. – P. 863–869.

159. 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. – Vol. 80. – P. 413–419.

160. Biomedical applications of chitin and chitosannanomaterials – a short review / R. Jayakumar, D. Menon, K. Manzoor [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2010. – Vol. 82. – P. 227–232.

161. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications / R. Jayakumar, M. Prabakaran, S. V. Nair [et al.] // *Biotechnol. Adv.* – 2010. – Vol. 28. – P. 142–150.

162. Rajan M. Potential Drug Delivery Applications of Chitosan Based Nanomaterials / M. Rajan, V. Raj // *International Review of Chemical Engineering.* – 2013. – Vol. 5(2). – P. 145–155.

163. Novel carboxymethyl chitin nanoparticles for cancer drug delivery applications / A. Dev, J.C. Mohan, V. Sreeja [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2010. – Vol. 79. – P. 273–279.

164. Prabakaran M. Chitosan-graft- $\beta$ -cyclodextrin scaffolds with controlled drug release capability for tissue engineering applications / M. Prabakaran, R. Jayakumar // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 320–325.

165. Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications / K. Madhumathi, P. T. Sudheesh Kumar, S. Abilash [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2010. – Vol. 21. – P. 807–813.

166. Новые тканые матрицы на основе рассасывающегося природного полисахарида хитина для культивирования и трансплантации клеток кожи человека / Г.М. Михайлов, М.Ф. Лебедева, Г.П. Пинаев [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2006. – Т.4, №6. – С. 56–61.

167. Михайлов Г. М. Матрицы из хитиновых волокон и трансплантаты клеток кожи для регенерации кожных покровов / Г. М. Михайлов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии. – 2008. – Т. 4, № 2. – С. 12–18.

168. Seda Tigli R. In vitro characterization of chitosan scaffolds: influence of composition and deacetylation degree / R. Seda Tigli, A. Karakecili, M. Gumusderelioglu // J. Mater. Sci. : mater. med. – 2007. – Vol. 18. – P. 1665–1674.

169. The fundamental parameters of chitosan in polymer scaffolds affecting osteoblasts (MC3T3-E1) / W. Suphasiriroj, P. Yotnuengnit, R. Surarit [et al.] // J. Mater. Sci. : Mater. Med. – 2009. – Vol. 20. – P. 309–320.

170. Отримання біосумісних полімерних плівок на основі хітозану та дослідження їхніх властивостей / Ю. І. Дзумед-зей, Г. А. Побігай, В. В Коновалова. [та ін.] // Наукові записки. Хімічні науки і технології. – 2010. – Т. 105. – С. 6.

171. Hybrid nanofibrous membranes of PLGA/chitosan fabricated via an electrospinning array / B. Duan, L. Wu, X. Yuan [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 2007. – Vol. 83A. – P. 868–878.

172. Солодовник Т.В. Плівки на основі хітозану: одержання, властивості, модифікація та використання / Т. В. Солодовник, Ю. М. Куриленко // Вопросы химии и химической технологии. – 2012. – № 4. – С. 65–82.

173. Development of novel chitosan-poly(N,N-diethylacrylamide) IPN films for potential wound dressing and biomedical Applications / J. I. Ngadaonye, L. M. Geever, J. Killion [et al.] // J. Polym. Res. – 2013. – Vol. 20. – P. 161.

174. Development and characterization of chitosan film / S. Bhuvaneshwari, D. Sruthi, V. Sivasubramanian [et al.] // International J. Of Engineering Research and Applications. –2011. – Vol. 1 (2). – P. 292–299.

175. Effect of moderate electric fields in the permeation properties of chitosan coatings / B. W. Souza, M. A. Cerqueira, A. Casariego [et al.] // Food Hydrocolloids.– 2009. – Vol. 23. – P. 2110–2115.

176. Influence of electric fields on the structure of chitosan edible coatings / B. W. Souza, M. A. Cerqueira, A. Casariego [et al.] // *Food Hydrocolloids*. – 2010. – Vol. 24. – P. 330–335.

177. 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.

178. Bangyekan C. Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films / C. Bangyekan, D. Aht-Ong, K. Srikulkit [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2006. – Vol. 63. – P. 61–71.

179. Functional characteristics of shrimp chitosan and its membranes as affected by the degree of deacetylation / T. S. Trung, W. W. Thein-Han, N. T. Qui [et al.] // *Bioresource technology*. – 2006. – Vol. 97, № 4. – P. 659–663.

180. Биодegradация пленочных полимерных покрытий на основе хитозана / Е. И. Кулиш, В. В. Чернова, В. П. Володина [и др.] // *Вестник Башкирского ун-та*. – Т. 13, № 1. – С. 23–26.

181. A study on the in vitro degradation of poly(L-lactide)/chitosan microspheres scaffolds / N. Zhu, D. Cooper, X. B. Chen [et al.] // *Front. Mater. Sci*. – 2013. – Vol. 7 (1). – P. 76–82.

182. Effect of chitosan molecular weight and deacetylation degree on hemostasis / J. Yang, F. Tian, Z. Wang [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. – 2008. – Vol. 84. – P. 31–37.

183. Effects of different artificial dermal scaffolds on vascularization and scar formation of wounds in pigs with full-thickness burn / T. Jian-ying, G. Rui, X. Jing // *Chinese journal of burns*. – 2012. – Vol. 28 (1). – P. 13–18.

184. Preparation and Biomedical Applications of Chitin and Chitosan Nanofibers / K. Azuma, S. Ifuku, T. Osaki [et al.] // *J. Biomed. Nanotechnol*. – 2014. – Vol. 10. – P. 2891–2920.

185. Plasma surface modification of chitosan membranes: characterization and preliminary cell response studies / S. S. Silva, S. M. Luna, M. E. Gomes [et al.] // *Macromol. Biosci.* – 2008. – Vol. 8. – P. 568–576.

186. Macrophage polarization following chitosan implantation / D. P. Vasconcelos, A. C. Fonseca, M. Costa [et al.] // *Biomaterials.* – 2013. – Vol. 34 (38). – P. 9952–9959.

187. The localisation of inflammatory cells and expression of associated proteoglycans in response to implanted chitosan / B. L. Farrugia, J. M. Whitelock, M. Jung [et al.] // *Biomaterials.* – 2014. – Vol. 35 (5). – P. 1462–1477.

188. Bi-Layer Scaffold of Chitosan/PCL-Nanofibrous Mat and PLLA-Microporous Disc for Skin Tissue Engineering / T. Lou, M. Leung, X. Wang [et al.] // *Journal of biomedical nanotechnology.* – 2014. – Vol. 10 (6). – P. 1105–1113.

189. Evaluation of chitosan gel containing liposome-loaded epidermal growth factor on burn wound healing / Z. Degim, N. Celebi, C. Alemdaroglu [et al.] // *International wound journal.* – 2011. – Vol. 8 (4). – P. 343–354.

190. Quaternized chitosan as an antimicrobial agent: Antimicrobial activity, mechanism of action and biomedical applications in orthopedics / H. Tan, R. Ma, C. Lin [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14. – P. 1854–1869.

191. Chitosan gel film bandages: Correlating structure, composition, and antimicrobial properties / P. Anay, G. Cardenas, V. Lavayen // *Journal of applied polymer science.* – 2013. – Vol. 128 (6). – P. 3939–3948.

192. Antimicrobial properties of chitosan and modification: a state of the art review / M. Kong, X.G. Chen, K. Xing [et al.] // *Int. J. Food. Microbiol.* – 2010. – Vol. 144 (1). – P. 51–63.

193. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity / M. Pereda, A. G. Ponce, N. E. Marcovich [et al.] // *Food Hydrocolloids.* – 2011. – Vol. 25 (5). – P. 1372–1381.

194. Liza G. Ovington Advances in wound dressings / G. Liza // *Clinics in Dermatology.* – 2007. – Vol. 25. – P. 33–38.

195. Chung Y. C. Antibacterial characteristics and activity of acid soluble chitosan / Y. C. Chung, C. Y. Chen // *Bioresource Technology*. – 2008. – Vol. 99 (8). – P. 2806–2814.

196. Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing / D. Chum-Mei, H. Lang-Zhen, Z. Ming [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2007. – Vol. 69. – P. 583–589.

197. Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, O-carboxymethyl and N, O-carboxymethyl chitosan nanoparticles / A. Anitha, V. V. Divya Rani, R. Krishna [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2009. – Vol. 78. – P. 672–677.

198. Je J. Y. Chitosan derivatives killed bacteria by disrupting the outer and inner membrane / J. Y. Je, S. K. Kim // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2006. – Vol. 54 (18). – P. 6629–6633.

199. Moussa S.H. Evaluation of fungal chitosan as a biocontrol and antibacterial agent using fluorescence-labeling / S. H. Moussa, A. A. Tayel, A. I. Al-Turki // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2013. – Vol. 54. – P. 204–208.

200. Fabrication, characterization of chitosan/nanosilver film and its potential antibacterial application / V. Thomas, M. Yallapu, S. B. Mohan [et al.] // *Journal of Biomaterials Science. – Polymer Edition*. – 2009. – Vol. 20 (14). – P. 2129–2144.

201. A novel CHS/ALG bi-layer composite membrane with sustained antimicrobial efficacy used as wound dressing / Y. Dong, H. Z. Liu, L. Xu [et al.] // *Chin. Chem. Lett.* – 2010. – Vol. 2. – P. 1011–1014.

202. Zheng L. Y. Study of antimicrobial activity of chitosan with different molecular weight / L. Y. Zheng, J. F. Zhu // *Carbohydrate Polymers*. – 2003. – Vol. 54 (4). – P. 527–530.

203. Effect of Molecular Weight of Chitosan on Antimicrobial Properties and Tissue Compatibility of Chitosan-impregnated Bacterial Cellulose Films / J. Kingkaew, S. Kirdponpattara, N. Sanchavanakit [et al.] // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2014. – Vol. 19. – P. 534–544.

204. Anti-biofilm activity of low-molecular weight chitosan hydrogel against *Candida* species / A. Silva-Dias, A. Palmeira-De-Oliveira, I. M. Miranda [et al.] // *Medical microbiology and immunology*. – 2014. – Vol. 203 (1). – P. 25–33.

205. Wittaya-arekul S. Development and in vitro evaluation of chitosan–polysaccharides composite wound dressings / S. Wittaya-arekul, C. Prahsarn // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – Vol. 313. – P. 123–128.

206. The use of chitosan to enhance photodynamic inactivation against *Candida albicans* and its drug-resistant clinical isolates / H. F. Chien, C. P. Chen, Y. C. Chen [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14. – P. 7445–7456.

207. Chitosan as an antibacterial compound: Insights into its mode of action / D. Raafat, K. von Bargen, A. Haas [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74 (12). – P. 3764–3773.

208. Antibacterial activity of optically transparent nanocomposite films based on chitosan or its derivatives and silver nanoparticles / Ricardo J. B. Pinto, Susana C. M. Fernandes, Carmen S. R. Freire [et al.] // *Carbohydrate Research*. – 2012. – Vol. 348. – P. 77–83.

209. Evaluation of physical properties of chitosan active membrane loaded with phytotherapeutic extract and silver sulfadiazine / M. Camargo, R. A. Cynthia, B. Expedito [et al.] // *Latin American Journal of Pharmacy*. – 2011. – Vol. 30(5). – P. 1033–1036.

210. Silver-containing antimicrobial membrane based on chitosan-TPP hydrogel for the treatment of wounds / P. Sacco, A. Travan, M. Borgogna [et al.] // *J. Mater. Sci: Mater Med.* – 2015. – Vol. 26. – P. 128.

211. Asymmetric chitosan membranes prepared by dry/wet phase separation: a new type of wound dressing for controlled antibacterial release / Fwu-Long Mi, Yu-Bey Wu, Shin-Shing Shyu [et al.] // *Journal of Membrane Science*. – 2003. – Vol. 212. – P. 237–254.

212. Accelerated wound healing by smad3 antisense oligonucleotides-impregnated chitosan/alginate polyelectrolyte complex / H. J. Hong, S. E. Jin, J. S. Park // *Biomaterials*. – 2008. – Vol. 29 (36). – P. 4831–4837.



213. Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing / M. P. Ribeiro, A. Espiga, D. Silva // *Wound Repair and Regeneration*. – 2009. – Vol. 17 (6). – P. 817–824.

214. Muzzarelli R. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone / R. A. Muzzarelli // *Carbohydrate Polymers*. – 2009. – Vol. 76 (2). – P. 167–182.

215. Лябин М. П. Совершенствование технологии получения хитозана / М. П. Лябин, П. С. Семенов // *Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 11 «Естественные науки»*. – 2011. – Т. 2, № 2. – С. 17–22.

216. Матеріали для лікування дефектів шкіри: перспективи застосування похідних хітозану / М. В. Погорелов, В. В. Корнієнко, Ю. А. Ткаченко [та ін.] // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 275–285.

217. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються 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).

218. 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>.

219. Пат. № 89985 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання дозованого термічного опіку шкіри лабораторним щурам / Олешко О. М., Корнієнко В. В., Ткаченко Ю. А. [та ін.] ; патентовласник Сумський державний університет. – № у 2013 13489 ; заявл. 20.11.13 ; опубл. 12.05.14, Бюл. № 9.

220. 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.

221. Morphological Study of Burn Wound Healing with the Use of Collagen-Chitosan Wound Dressing / K. Kirichenko, I. N. Bolshakov, A. E. Ali-Riza [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 154 (5). – P. 692–696.

222. Савченко Ю. П. Методы определения размеров раневой поверхности / Ю. П. Савченко, С. Р. Федосов // Вестник хирургии. – 2007. – № 1. – С. 102–105.

223. Покровская М. П. Цитология раневого экссудата как показатель заживления ран / М. П. Покровская, М. С. Макаров. – М. : Медгиз, 1942. – 44 с.

224. Камаев М. Ф. Инфицированная рана и ее лечение. 2-е изд. / М. Ф. Камаев. – М. : Медицина, 1979. – 159 с.

225. Быков В. Л. Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей) / В. Л. Быков. – СПб. : СОТИС, 2003. – 520 с.

226. Афанасьев Ю. И. Гистология, цитология и эмбриология / Ю. И. Афанасьев, С. Л. Кузнецова, Н. А. Юрина – М. Медицина, 2004. – 766 с.

227. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 95 с.

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

229. 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.

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

231. Особливості цитологічної картини поверхні опікової рани при використанні хітозанових плівок / В. В. Корнієнко, О. В. Калінкевич, В. Н. Дейнека [та ін.] // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 65–69.

232. Використання хітозану для лікування пошкоджень різної етіології / М. В. Погорєлов, О. В. Калінкевич, О. В. Солодовник [та ін.] // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 2 (61). – С. 150–154.

233. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових мембран в різні вікові періоди / В. В. Корнієнко, О. В. Калінкевич, М. В. Погорєлов [та ін.] // Морфологія. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 42–50.

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

235. Корнієнко В. В. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових плівок у тварин старечого віку / В. В. Корнієнко, О. М. Олешко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4, Т. 1 (113). – С. 275–278.

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

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

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

239. Корнієнко В. В. Особливості регенераторних процесів в опіковій рані тварин молодого віку при використанні хітозанових плівок / В. В. Корнієнко //

Актуальні питання теоретичної та практичної медицини : II міжнар. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 16–18 квітня 2014 р. : тези доп. – Суми, 2014. – С. 79–80.

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

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

242. The effect of oxandrolone on the endocrinologic, inflammatory, and hypermetabolic responses during the acute phase postburn / M. G. Jeschke, C. C. Finnerty, O. E. Suman [et al.] // Ann. Surg. – 2007. – Vol. 246. – P. 351–360.

243. Alsarra I. A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds / I. A. Alsarra // Int. J. Biol. Macromol. – 2009. – Vol. 45. – P. 16–21.

244. In vitro and in vivo biological performance of collagen-chitosan/silicone membrane bilayer dermal equivalent / Lie Ma, Yanchao Shi, Yixin Chen [et al.] // J. Mater. Sci : mater. med. – 2007. – Vol. 18. – P. 2185–2191.

245. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи / В. Л. Зорин, А. И. Зорина, О. С. Петракова [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, № 4. – С. 26 – 40.

246. Characterization and in vitro evaluation of electrospun chitosan/polycaprolactone blend fibrous mat for skin tissue engineering / T. Prasad, E. A. Shabeena, D. Vinod [et al.] // J. Mater. Sci : mater. med. – 2015. – Vol. 26. – P. 28.

247. Application of collagen-chitosan/fibrin glue asymmetric scaffolds in skin tissue engineering / Chun-mao Han, Li-ping Zhang, Jin-zhang Sun [et al.] // J. Zhejiang. Univ-Sci. B (Biomed & Biotechnol). – 2010. – Vol. 11 (7). – P. 524–530.

248. Preparation and characterization of artificial skin using chitosan and gelatin composites for potential biomedical application / S. Parvez, M. Mizanur Rahman, M. A. Khan [et al.] // *Polym. Bull.* – 2012. – Vol. 69. – P. 715–731.

249. Study of Wound-Healing Properties of Chitosan / S. F. Antonov, E. V. Kryzhanovskaya, Yu. I. Filippov [et al.] // *Russian Agricultural Sciences.* – 2008. – Vol. 34 (6). – P. 426–427.

250. Wound Healing Potential of Chitosan and N-Sulfosuccinoyl Chitosan Derivatives / T. P. Alekseeva, A. A. Rakhmetova, O. A. Bogoslovskaya [et al.] // *Biology Bulletin.* – 2010. – Vol. 37 (4). – P. 339–345.

251. Analgesis and Wound Healing Effect of Chitosan and Carboxymethyl Chitosan on Scalded Rats / S. Huang, B. Han, K. Shao [et al.] // *J. Ocean Univ. China.* – 2014. – Vol. 13 (5). – P. 837–841.

252. In vitro characterization of a chitosan skin regenerating template as a scaffold for cells cultivation / A. B. Mohd Hilmi, A. S. Halim, A. Hassan [et al.] // *Springer. Plus.* – 2013. – Vol. 2. – P. 79.

253. Blasinska A. Effects of nonwoven mats of Di-O-butyrylchitin and related polymers on the process of wound healing / A. Blasinska, J. Drobnik // *J. Biomacrololecules.* – 2008. – Vol. 9. – P. 776–782.

254. Effects of chitin and chitosan on collagen synthesis in wound healing / K. Kojima, Y. Okamoto, K. Kojima [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2004. – Vol. 66. – P. 1595–1598.

255. Depan D. Cell proliferation and controlled drug release studies of nanohybrids based on chitosan-g-lactic acid and montmorillonite / D. Depan, A. P. Kumar, R. P. Singh // *Acta Biomaterialia.* – 2009. – Vol. 5. – P. 93–100.

256. Rapid adhesion and proliferation of keratinocytes on the gol colloid/chitosan film scaffold / Y. Zhang, H. He, W. J. Gao [et al.] // *Mater. Sci. Eng.* – 2009. – Vol. 29. – P. 908–912.

257. A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing / Chao Yang, Ling Xua, Ying Zhou [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2010. – Vol. 82. – P. 1297–1305.

258. Effect of a Composition Containing Chitosan Gel and a Bioregulator from Blood Serum on Healing of Purulent Wounds in Mice / G. M. Stretskii, M. S. Krasnov, E. Yu. Rybakova [et al.] // *Cell Technologies in Biology and Medicine*. – 2012. – Vol. 4. – P. 524–527.

259. Preparation and function of composite asymmetric chitosan/CM-chitosan membrane / Hong Tao Pang, Xi Guang Chen, Qiu Xia Ji [et al.] // *Mater. Sci. : mater. med.* – 2008. – Vol. 19. – P. 1413–1417.

260. The effect of carboxymethyl chitosan nanoparticles on proliferation of keloid fibroblast / C. Feng, X. Chen, J. Zhang [et al.] // *Front. Chem. China*. – 2011. – Vol. 6 (1). – P. 31–37.

261. Effect of electrospun non-woven mats of dibutyril chitin/poly(lactic acid) blends on wound healing in hairless mice / S. I. Jang, J. Y. Mok, I. H. Jeon [et al.] // *Molecules*. – 2012. – Vol. 17. – P. 2992–3007.

262. Soehnlein O. Phagocyte partnership during the onset and resolution of inflammation / O. Soehnlein, L. Lindbom // *Nat. Rev. Immunol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 427–439.

263. TLR-2 and IL-17A in chitin-induced macrophage activation and acute inflammation / C. A. Da Silva, D. Hartl, W. Liu [et al.] // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181. – P. 4279–4286.

264. 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. – Vol. 16. – P. 425–431.

265. The Evaluation on Biological Properties of Carboxymethylchitosan and Carboxymethyl-chitin / J. Chang, W. Liu, B. Han [et al.] // *J. Ocean Univ. Chin.* – 2008. – Vol.7 (4). – P. 404–410.

266. Werner S. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing / S. Werner, T. Krieg, H. Smolaetal // J. Invest. Dermatol. – 2007. – Vol. 125 (5). – P. 998–1008.

267. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview / R. Adamson // J. Wound Care. – 2009. – Vol. 18. – P. 349–351.

268. Adhesion and proliferation of adipose derived mesenchymal stromal cells on chitosan scaffolds with different degree of deacetylation / O. Yu. Rogulska, Yu. O. Petrenko, O. Kalinkevich [et al.] // Biopolymers and Cell. – 2014. – Vol. 30 (2). – P. 135–140.

269. Погорелов М. В. Планіметричні та морфометричні показники динаміки процесу загоєння модельованого опіку при застосуванні хітозанових мембран у тварин різних вікових груп / М. В. Погорелов, В. В. Корнієнко // Морфологія. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 58–61.