

Вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти на гістоструктуру шкіри щурів після гострої холодової травми

Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, С. М. Дрогвоз, Ю. Б. Лар'яновська

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Ключові слова:
холодова травма, фізіологічний стрес, глюкозамін, аспірин.

Запорізький медичний журнал. – 2018. – Т. 20, № 4(109). – С. 568–573

DOI:
10.14739/2310-1210.2018.4.135381

E-mail:
jck.bond@gmail.com

Мета роботи – схарактеризувати вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти (АСК) на морфологічні зміни шкіри подушок стоп задніх кінцівок і кінчика хвоста в щурів після гострого загального охолодження (ГЗО).

Матеріали та методи. Гостру холодову травму (ХТ) моделювали в щурів у морозильній камері «Nord Inter-300» при -18°C протягом 2 годин. Досліджувані препарати: ацетилсаліцилову кислоту (25 мг/кг), «Глюкозамін-С БХФЗ» (82,5 мг/кг) та глюкозаміну гідрохлорид (50 мг/кг) – вводили профілактично за 30 хв до ХТ.

Результати. Встановили, що глюкозаміну гідрохлорид і «Глюкозамін-С БХФЗ» чинять виразний позитивний вплив на гістоструктуру шкіри щурів порівняно з препаратом порівняння ацетилсаліциловою кислотою.

Висновки. Найвищий фригопротекторний ефект виявили глюкозаміну гідрохлорид і «Глюкозамін-С БХФЗ», на тлі застосування яких відсутні запальні реакції в дермі, не спостерігали розлади мікроциркуляції, під впливом глюкозаміну гідрохлориду гістологічна структура шкіри наближається до такої у групі інтактного контролю. Ацетилсаліцилова кислота майже не впливає на порушення гістоструктури шкіри у тварин із холодовою травмою – спостерігали виразний гіперкератоз, дистрофію кератиноцитів, запальну реакцію в дермі та підшкірній клітковині.

Влияние препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты на гистоструктуру кожи крыс после острой холодовой травмы

Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь, С. М. Дрогвоз, Ю. Б. Ларьяновская

Ключевые слова:
холодовая травма, физиологический стресс, глюкозамин, аспирин.

Запорожский медицинский журнал. – 2018. – Т. 20, № 4(109). – С. 568–573

Цель работы – охарактеризовать влияние препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты (АСК) на морфологические изменения кожи подушек стоп задних конечностей и кончика хвоста у крыс после острого общего охлаждения (ООО).

Материалы и методы. Острую холодовую травму (ХТ) моделировали на крысах в морозильной камере «Nord Inter-300» при -18°C на протяжении 2 часов. Исследуемые препараты: ацетилсалициловую кислоту (25 мг/кг), «Глюкозамин-С БХФЗ» (82,5 мг/кг) и глюкозамина гидрохлорид (50 мг/кг) – вводили профилактически за 30 мин до острой ХТ.

Результаты. Установлено, что глюкозамина гидрохлорид и «Глюкозамин-С БХФЗ» оказывают выраженное положительное влияние на гистоструктуру кожи крыс в сравнении с препаратом сравнения ацетилсалициловой кислотой.

Выводы. Наиболее выраженный фригопротекторный эффект проявили глюкозамина гидрохлорид и «Глюкозамин-С БХФЗ», при использовании которых отсутствуют воспалительные реакции в дерме, не наблюдали нарушения микроциркуляции, под действием глюкозамина гидрохлорида гистологическая структура кожи приближается к группе интактного контроля. При этом ацетилсалициловая кислота практически не влияет на нарушения гистоструктуры кожи у животных – отмечен выраженный гиперкератоз, дистрофия кератиноцитов, воспалительная реакция в дерме и подкожной клетчатке.

Key words:
cold injury, physiological stress, glucosamine, aspirin.

Zaporozhye medical journal
2018; 20 (4), 568–573

Effect of glucosamine and acetylsalicylic acid preparations on the rat skin histostructure after acute cold trauma

Ye. V. Bondariev, S. Yu. Shtryhol, S. M. Drohvoz, Yu. B. Larianovska

Aim. The study of the glucosamine and acetylsalicylic acid action on the morphological changes of the foot pads of hindlegs and the tip of rats' tail after acute cold trauma (CT).

Materials and methods. Rats were modeled CT in the Nord Inter-300 freezer at -18°C for 2 hours. The study drugs – acetylsalicylic acid (25 mg/kg), «Glucosamine-C BHFZ» (82.5 mg/kg) and glucosamine hydrochloride (50 mg/kg) were administered prophylactically 30 min before acute CT.

Results. Glucosamine hydrochloride and «Glucosamine-C BHFZ» has been determined to have a marked positive effect on the rat skin histological structure in comparison with the reference drug (acetylsalicylic acid).

Conclusions. The most marked frigoprotective effect had glucosamine hydrochloride and «Glucosamine-C BHFZ» as with administration of which there were no inflammatory reactions in the dermis and microcirculation disturbances were not observed. In the group of animals treated with glucosamine hydrochloride the histological structure corresponded to the intact control group. Acetylsalicylic acid did not restore the animals' skin histological structure as pronounced hyperkeratosis, keratinocytes dystrophy and inflammatory reaction in the dermis and in the subcutaneous adipose tissue were observed.

Холодова травма (ХТ) виникає при дії на організм низьких температур [1,2]. Серед населення України ХТ – доволі часте явище. Вони виникають частіше в зимовий час, кількість постраждалих становить понад 12 000 осіб [3].

Загальне охолодження організму супроводжується порушеннями мікроциркуляції, особливо на тлі судинних захворювань кінцівок, втоми або стресової ситуації, алкогольного сп'яніння. До формування гострої реакції на холод залучаються всі органи, системи [4–6]. Першим органом, який зазнає вплив низьких температур, є шкіра.

Незважаючи на те, що вплив холоду на організм людини та тварин досліджують уже понад 100 років, морфологічні зміни у шкірі при ХТ, особливо в аспекті корекції фригопротекторами, вивчені недостатньо [7–9].

У попередніх дослідженнях показано, що глюкозаміну гідрохлорид (Г г/х) при гострій ХТ чинить виразну захисну дію: зменшує гіпотермію, поліпшує виживаність тварин, рухову та фізичну активність, реологічні властивості крові, перевершуючи ацетилсаліцилову кислоту (АСК) – відомий фригопротектор [10–13].

Ці переваги обґрунтовують доцільність поглибленого вивчення відзначених препаратів як потенційних засобів лікування ХТ. Зокрема, залишається невідомим їхній вплив на стан шкіри при гострій холодовій травмі.

Мета роботи

Схарактеризувати вплив препаратів глюкозаміну та АСК на морфологічні зміни шкіри подушок стоп задніх кінцівок і кінчика хвоста у щурів після гострого загального охолодження (ГЗО).

Матеріали і методи дослідження

Робота виконана в осінній період на білих щурах-самках масою 210–250 г (30 щурів). Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію при вільному доступі до води, постійній вологості та температурному режимі +22–23 °С. Протокол дослідження узгоджується з біоетичними нормами та відповідає «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (Україна, 2001), а також не суперечить положенням «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [14].

Досліджувані препарати: 0,9 % розчин NaCl (контроль), «Глюкозамін-С БХФЗ» (Україна), субстанція Г г/х (Sigma-Aldrich, Німеччина) та розчинені таблетки АСК («Вауер», Німеччина) – вводили у вигляді водного розчину внутрішньошлунково (в/ш) у профілактичному режимі за 30 хв до ХТ, як узвичасно при вивченні фригопротекторних властивостей [13]. Тварин поділили на 5 груп: 1 група інтактний контроль (ІК) (n = 6), щурам вводили розчин NaCl (1 мл/100 г); 2 група – контрольна патологія (ХТ), тваринам вводили розчин NaCl (1 мл/100 г) (n = 6); 3 група – АСК (25 мг/кг) + ХТ (n = 6); 4 група – «Глюкозамін-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг (ця доза еквівалентна 50 мг/кг Г г/х) + ХТ (n = 6); 5 група – Г г/х (50 мг/кг) + ХТ (n = 6). Доза Г г/х 50 мг/кг та АСК 25 мг/кг є умовно ефективними під час холодової травми [10]. Для введення щурам «Глюкозаміну-С БХФЗ» розчинили вміст капсули у воді.

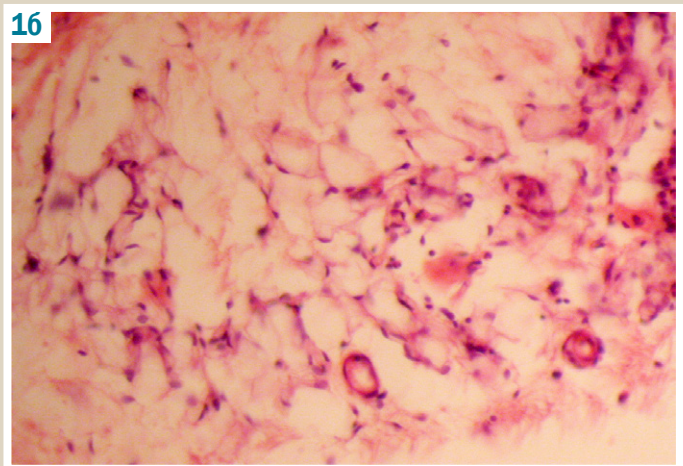
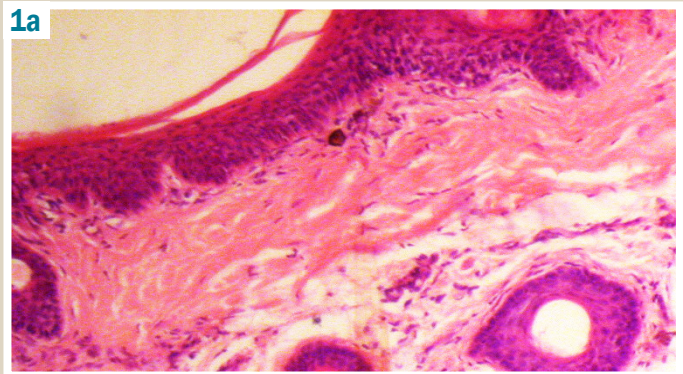


Рис. 1. Шкіра (а) та підшкірно-жирова клітковина (б) хвоста інтактного щура: а: нормальний стан епідермісу, дерми, волосяних фолікулів; б: стан кровоносних капілярів, насиченість клітинного вмісту в межах норми. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

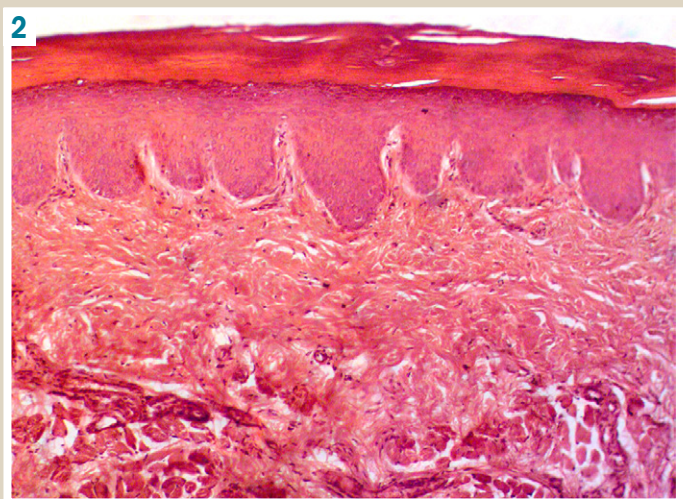


Рис. 2. Шкіра з подушки стопи задньої кінцівки інтактного щура. Виразний компактний роговий шар над потовщеним шаром епідермісу з глибокими сосочковими виростами в дерму, широкий м'язовий шар. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

Для моделювання гострої ХТ щурів вміщували у пластикові клітки без обмеження доступу до повітря та розташовували у морозильній камері «Nord Inter-300» при -18 °С на 2 години [13].

На другую добу виконували евтаназію летальною дозою тіопенталового наркозу, брали зразки шкіри подушок лап і кінчика хвоста.

Зразки шкіри фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах концентрації, що збільшується, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином [15]. Мікрофотографування зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310.

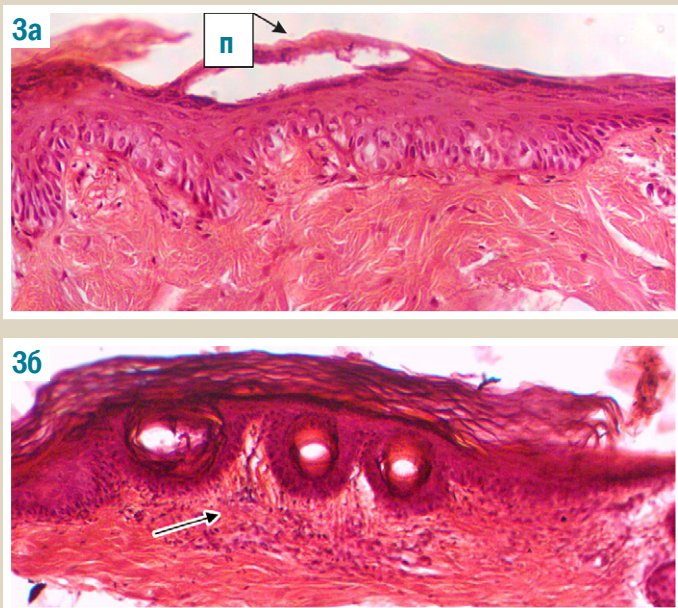


Рис. 3. Шкіра хвоста щура на 2 добу після перебування при -18 °С:
а: внутрішньоепідермальний пухирець (п), вакуольна дистрофія кератиноцитів росткового шару (×250); **б:** помірна (стрілка) інфільтрація дерми (×100). Гематоксилін-еозин.

Фотознімки опрацьовували на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View. Статистично результати опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних програм Statistica, V. 6.0 [16].

Результати та їх обговорення

Епідерміс шкіри хвоста інтактних тварин мав типову гістоархітектуру. У ньому наявні базальний, шипуватий, зернистий і роговий шари. Роговий шар компактний. Межа між епідермісом і дермою помірно звивиста, чітка, видні відносно нечисленні епідермальні сосочки. Дерма звичайного вигляду, ширина її невелика. Колагенові волокна щільні. Кількість волосяних фолікулів різна. Сальні залози, розташовані поруч з ними в дермі, звичайного виду. Дерма не різко відмежована від помірно вузького шару підшкірно-жирової клітковини. Остання являє собою жирові часточки, що розділені тонкими сполучнотканинними перетинками. На межі з дермою в підшкірно-жировій клітковині спостерігали нечисленні дрібні артерії, глибше видні нечисленні волосяні фолікули. Клітинний вміст підшкірно-жирової клітковини помірний (рис. 1).

На подушках стоп задніх кінцівок інтактних щурів епідерміс дуже виразний, містить до 10–12 рядів клітин. У ньому чітко видно базальний, шипуватий, зернистий і роговий шари. Роговий шар компактний, щільний, об'єм його становить до 1/3 об'єму всього епідермального пласта. Видні численні довгі сосочкові вирости епідермісу в підлеглу дерму, в якій відсутні волосяні фолікули. Волокна дерми доволі грубі, клітинна насиченість низька, кровоносні судини нечисленні. Підлеглий до дерми шар м'язової тканини широкий, потужний. М'язові волокна не змінені (рис. 2).

Дослідження шкіри хвоста щурів групи контрольної патології показало: на 2 добу після перебування в мо-

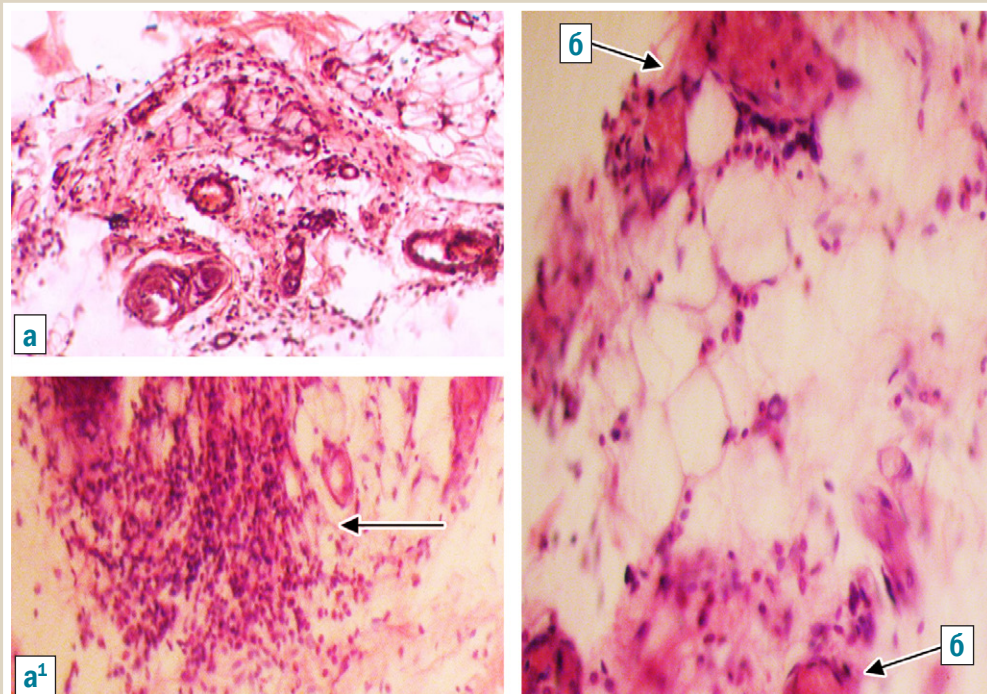


Рис. 4. Підшкірно-жирова клітковина шкіри хвоста щура на 2 добу після перебування при -18 °С:
а: помірна дифузна (а) та виразна вогнищева (а¹) круглоклітинна інфільтрація;
б: тромбоз кровоносних судин.
 Гематоксилін-еозин. ×200.

розильній камері внутрішньоєпітеліально в епідермісі з'являються поодинокі дрібні пухирці, клітини росткового шару часто у стані вакуольної дистрофії. Роговий шар місцями гіпертрофований. У дермі колагенові волокна ущільнені, подекуди спостерігали помірну круглоклітинну інфільтрацію (рис. 3).

У підшкірно-жировій клітковині на різних ділянках спостерігали помірну дифузну або виразну вогнищеву інфільтрацію круглоклітинними елементами, розширення та тромбоз кровоносних судин (рис. 4).

На подушках стоп задніх кінцівок місцями визначили гіперкератоз, епідермальні вирости незначні або майже відсутні. У підлеглий дермі виразна запальна реакція (рис. 5).

Отже, у шкірі щурів, а саме на ділянках, що не тільки зазнавали загальну дію холоду, але й мали безпосередній контакт з охолодженою металевою поверхнею морозильної камери, виникають морфологічні ознаки відмороження 1–2 ступеня: поверхневі структурні зміни епідермісу, ексудативні явища [17,18].

Введення Г/гх позитивно вплинуло на стан шкіри щурів. Так, у шкірі хвоста не виявили дистрофічні зміни епідермісу, відсутня запальна реакція в дермі, у підшкірно-жировій клітковині мають місце незначні залишки запальної реакції, розлади мікроциркуляції не спостерігали (рис. 6а). На подушках стоп задніх кінцівок ознаки гіперкератозу не виявили, виразність епідермальних сосочків на-

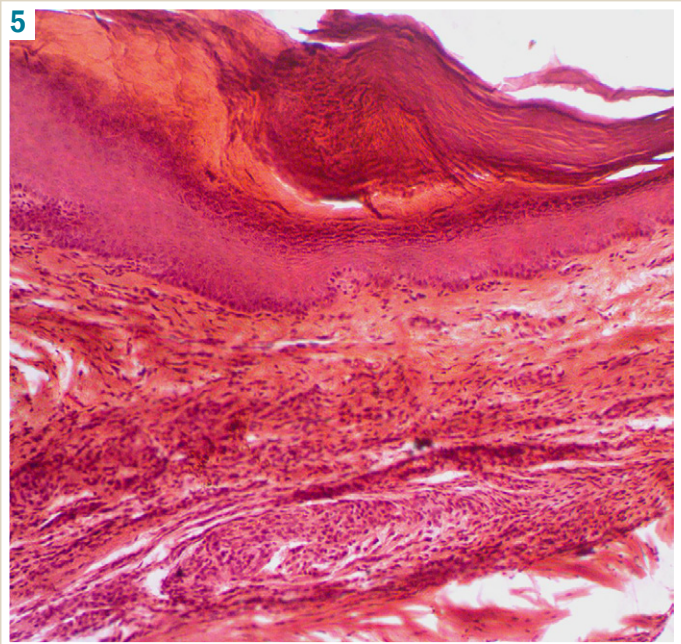


Рис. 5. Шкіра з подушки стопи задньої кінцівки щура на 2 добу після перебування при -18°C . Гіперкератоз, відсутність епідермальних виростів, виразна дифузна запальна реакція. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

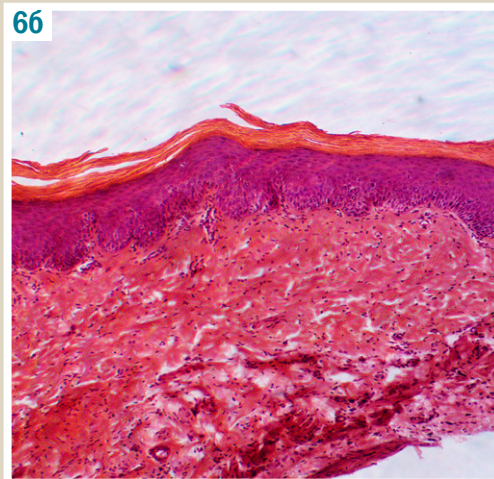
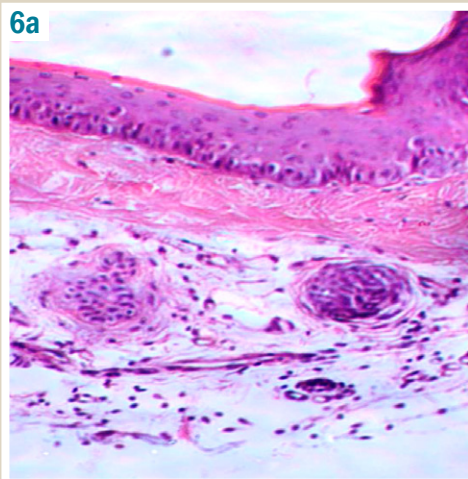


Рис. 6. Шкіра хвоста (а, $\times 200$) та подушки стопи задньої кінцівки (б, $\times 100$) щура з гострою холодовою травмою, якому вводили глюкозаміну гідрохлорид. Відсутність змін в епідермісі й дермі, незначні залишки запальної реакції в підшкірно-жировій клітковині шкіри хвоста.

Гематоксилін-еозин.

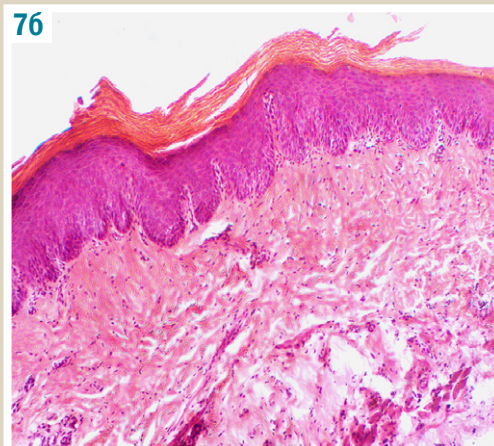
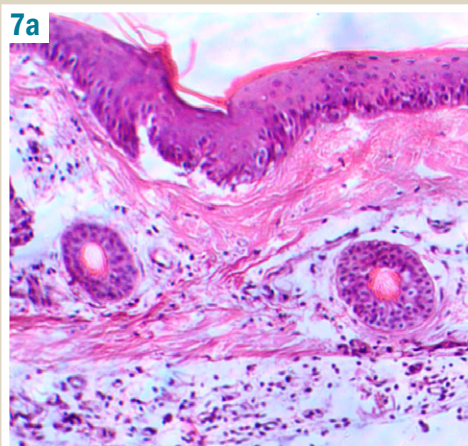


Рис. 7. Шкіра хвоста (а, $\times 200$) та подушки стопи задньої кінцівки (б, $\times 100$) щура з гострою холодовою травмою, якому вводили «Глюкозамін-С БХФЗ». Відсутність змін в епідермісі та дермі. Помірна запальна реакція в гіподермі шкіри хвоста.

Гематоксилін-еозин.

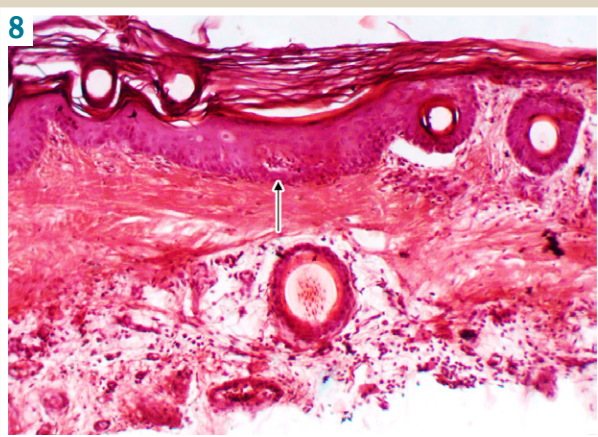


Рис. 8. Шкіра хвоста щура з гострою холодовою травмою, якому вводили ацетилсаліцилову кислоту. Гіперкератоз, дрібновогнищевий екзоцитоз (стрілка), запальна реакція в дермі й підшкірно-жировій клітковині. Гематоксилін-еозин. ×200.

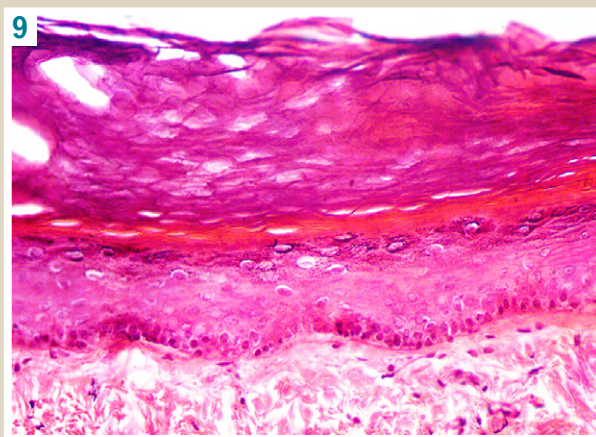


Рис. 9. Шкіра подушки стопи задньої кінцівки щура з гострою холодовою травмою, якому вводили ацетилсаліцилову кислоту. Гіперкератоз, помірна дистрофія кератиноцитів, відсутність запалення в дермі. Гематоксилін-еозин. ×200.

ближена до такої в інтактних щурів, стан дерми незмінний (рис. 6б).

Під впливом «Глюкозаміну-С БХФЗ» спостерігали поліпшення стану шкіри досліджених ділянок тіла порівняно з контрольною патологією. Відсутні порушення рогоутворення, значно зменшені дистрофічні зміни кератиноцитів в епідермальному пласті шкіри хвоста, втім ще виявлялась відносно помірна запальна реакція в підшкірно-жировій клітковині (рис. 7а). Стан шкіри подушки стопи задньої кінцівки відповідав такому в інтактних тварин (рис. 7б).

У шкірі хвоста під впливом АСК у щурів спостерігали виразний гіперкератоз, вакуольну дистрофію кератиноцитів, дрібновогнищевий екзоцитоз (проникнення лейкоцитів в епітеліальний шар), запальну реакцію в дермі й підшкірній клітковині (рис. 8).

У шкірі подушок стопи задніх кінцівок спостерігали гіперкератоз, помірну дистрофію кератиноцитів. Зміни з боку дерми не виявили (рис. 9).

На підставі отриманих даних можна зробити такі узагальнення. Двогодинне перебування при -18°C викликає у щурів ХТ. На ділянках шкіри щурів, які мали безпосередній контакт з охолодженою металевою поверхнею морозильної камери (хвіст і подушки стоп задніх кінцівок), виникають морфологічні ознаки відмороження 1 і початку 2 ступеня [19] – поверхневі структурні зміни епідермісу, ексудативні явища.

Препарати глюкозаміну – Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФЗ» – позитивно впливали на стан шкіри в щурів: не визначили дистрофічні зміни епідермісу, відсутня запальна реакція у дермі, не спостерігали розлади мікроциркуляції, а під впливом АСК спостерігали запальну реакцію в дермі та підшкірній клітковині.

Висновки

1. Здійснили дослідження ефективності профілактики уражень шкіри препаратами глюкозаміну – «Глюкозаміну-С БХФЗ» та Глюкозаміну гідрохлориду в порівнянні з ацетилсаліциловою кислотою на моделі гострої холодової травми в щурів.

2. Найвищий фригопротекторний ефект виявили

глюкозаміну гідрохлорид і «Глюкозаміну-С БХФЗ», на тлі застосування яких відсутні запальні реакції в дермі, не спостерігали розлади мікроциркуляції, під впливом глюкозаміну гідрохлориду гістологічна структура шкіри наближається до такої у групі інтактного контролю.

3. Ацетилсаліцилова кислота майже не впливає на порушення гістоструктури шкіри у тварин із холодовою травмою – спостерігали виразний гіперкератоз, дистрофію кератиноцитів, запальну реакцію в дермі та підшкірній клітковині.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Бондарев Є. В., канд. фарм. наук, докторант каф. фармакології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
Штриголь С. Ю., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фармакології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
Дроговоз С. М., д-р мед. наук, професор каф. фармакології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
Лар'яновська Ю. Б., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Сведения об авторах:

Бондарев Е. В., канд. фарм. наук, докторант каф. фармакологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.
Штриголь С. Ю., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. фармакологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.
Дроговоз С. М., д-р мед. наук, профессор каф. фармакологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.
Ларьяновская Ю. Б., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Information about authors:

Bondariev Ye. V., PhD, Doctoral Candidate of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.
Shtryhol S. Yu., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Drohovoz S. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. Larianovska Yu. B., PhD, Senior Staff Scientist of Central Research Laboratory, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 18.01.2018
Після доопрацювання / Revised: 01.02.2018
Прийнято до друку / Accepted: 12.02.2018

Список літератури

- [1] Локальная холодовая травма: вопросы патогенеза, оценки тяжести и лечения (обзор литературы) / Ю.С. Винник, А.Б. Салмина, М.Ю. Юрьева, О.В. Теплякова // Московский хирургический журнал. – 2011. – Т. 17. – №4. – С. 42–48.
- [2] Johnson A.R. Efficacy of intravenous tissue plasminogen activator in frostbite patients and presentation of a treatment protocol for frostbite patients / A.R. Johnson, H.L. Jensen, G. Peltier // *Foot & Ankle Specialist*. – 2011. – Vol. 4. – Issue 6. – P. 344–348.
- [3] Алгоритми лікувальної тактики хворих з холодовою травмою, відмороженням окремих ділянок та сегментів тіла. Методичні рекомендації / С.О. Гур'єв, Г.Г. Рошчін, Я.С. Кукуруз, М.Д. Близнюк; ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф, Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2014. – 40 с.
- [4] Трухин Д.В. Методы оценки тяжести локальной холодовой травмы в дореактивном и раннем реактивном периодах / Д.В. Трухин, Н.Г. Третьякова, Е.И. Мичуров // Сборник материалов 76-й итоговой студенческой научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Л.П. Роднянского. – Красноярск : Версо, 2012. – С. 573–574.
- [5] Moffatt S.E. Hypothermia in trauma / S.E. Moffatt // *Emerg. Med J.* – 2013. – Vol. 30. – Issue 12. – P. 989–996.
- [6] Закревский Ю.Н. Особенности холодовой и комбинированной механо-холодовой травмы при морских катастрофах (обзор литературы) / Ю.Н. Закревский, Р.П. Матвеев // *Медицина катастроф*. – 2014. – №4(88). – С. 46–49.
- [7] Значение эндотелиальной дисфункции в патогенезе локальной холодовой травмы / Ю.С. Винник, О.В. Теплякова, М.Ю. Юрьева, и др. // *Российский медицинский журнал*. – 2014. – Т. 22. – №31. – С. 2204–2206.
- [8] Эндотелиальная дисфункция в отдалённом периоде холодовой травмы / Ю.Г. Шапкин, П.К. Гамзатова, Н.Ю. Стекольников и др. // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. – 2014. – Т. 7. – № 4. – С. 359–363.
- [9] Малюк Е.А. Структурные изменения кожи конечностей крыс при местном охлаждении на фоне применения антиоксиданта / Е.А. Малюк, С.С. Целуйко, Н.П. Красавина // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2015. – №2. – С. 101–105.
- [10] Бондарев Є.В. Скринингове дослідження глюкозаміну гідрохлориду в якості засобу фригопротекторної дії / Є.В. Бондарев, С.Ю. Штриголь // *Клінічна фармація*. – 2010. – Т. 14. – №4. – С. 47–49.
- [11] Агрегация тромбоцитов под влиянием препаратов глюкозамину гидрохлориду та ацетилсалицилової кислоти при гострій холодовій травмі / Є.В. Бондарев, С.Ю. Штриголь, І.А. Зупанець, І.А. Отришко // *Клінічна фармація*. – 2017. – Т. 21. – №1. – С. 50–56.
- [12] Бондарев Є.В. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан центральної нервової системи та фізичну витривалість мишей після гострого загального охолодження / Є.В. Бондарев, С.Ю. Штриголь // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2010. – №5(10). – С. 60–65.
- [13] Патент 52370, Україна, А61К 31/726, А61Р 43/00 (2009). Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії / Є.В. Бондарев, С.Ю. Штриголь, О.Ф. Пімінов, Н.А. Домар; заявлено 19.02.2010 р.; опубл. 25.08.2010 р. // *Бюлетень*. – №16.
- [14] Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.
- [15] Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленингр. отделение, 1969. – 424 с.
- [16] Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных : учебник / А.А. Халафян. – 3-е изд. – М. : Бином-Пресс, 2007. – 512 с.
- [17] Зорин Н.А. Биохимические и морфологические исследования процесса отмирания в эксперименте / Н.А. Зорин, Л.И. Слуцкий // *Научные труды Рижского НИИ травматологии и ортопедии*. – Рига, 1977. – С. 129–141.
- [18] Пинсон И.Я. Структурные и функциональные характеристики кожи после влияния низких температур и ПЕО-1500 : автореф. дис. на соискание ученой степени к.мед.н. / И.Я. Пинсон. – Х., 1999. – 17 с.
- [19] Судебная медицина / Ю.И. Пиголкин, Е.Х. Баринов, Д.В. Богомолов, И.Н. Богомолова. – М. : ГЭОТАР-МВД, 2002. – 500 с.

References

- [1] Vinnik, Yu. S., Salmina, A. B., Yurieva, M. Yu., & Teplyakova, O. V. (2011). Lokal'naya kholodovaya travma: voprosy patogeneza, ocenki tyazhesti i lecheniya (obzor literatury) [The local cold-trauma: the problems of pathogenesis, estimation of heaviness and treatment]. *Moskovskij khirurgicheskij zhurnal*, 17(4), 42–48. [in Russian].
- [2] Johnson, A. R., Jensen, H. L., Peltier, G., & Delacruz, E. (2011). Efficacy of intravenous tissue plasminogen activator in frostbite patients and presentation of a treatment protocol for frostbite patients. *Foot & Ankle Specialist*, 4(6), 344–348. doi: 10.1177/1938640011422596.
- [3] Huriev, S. O., Roshchin, H. H., Kukuruz, Ya. S., & Blyzniuk, M. D. (2014). Alhorytmy likuvalnoi taktiky khvorykh z kholodovoiu travmoiu, vidmorozhenniam okremykh dilianok ta sehmektiv tila [Algorithms of therapeutic tactics of patients with cold trauma, frostbite of individual sites and segments of the body]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [4] Trukhin, D. V., Tret'yakova, N. G., & Michurov, E. I. (2012). Metody ocenki tyazhesti lokal'noy kholodovoy travmy v doreaktivnom i ranнем реактивном periodakh [Methods for assessing the severity of local cold trauma in the pre-reactive and early reactive periods]. Proceedings of the 76th final student Scientific and Practical Conference with international participation. (P. 573–574). Krasnoyarsk : Verso. [in Russian].
- [5] Moffatt, S. E. (2013) Hypothermia in trauma. *Emerg Med J*, 30(12), 989–996. doi: 10.1136/emermed-2012-201883.
- [6] Zakrevskiy, Yu. N., & Matveev, R. P. (2014). Osobennosti kholodovoy i kombinirovannoy mekhano-kholodovoy travmy pri morskikh katastrofakh (obzor literatury) [Specifics of Freezing Injury and Combined Mechanic-Freezing Injury in Sea Disasters: Literature Review]. *Medicina katastrof*, 4(88), 46–49. [in Russian].
- [7] Vinnik, Yu. S., Teplyakova, O. V., Yur'eva, M. Yu., Salmina, A. B., & Tret'yakova, N. G. (2014). Znachenie e'ndotelial'noj disfunkcii v patogeneze lokal'noj kholodovoy travmy [The importance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of local cold trauma]. *Rossiyskij medicinskij zhurnal*, 22(31), 2204–2206. [in Russian].
- [8] Shapkin, Iu. G., Gamzatova, P. K., Stekol'nikov, N. Iu., & Odnokozova, Iu. S. (2014). E'ndotelial'naya disfunkciya v otdalennom periode kholodovoy travmy [Endothelial Disfunction in the Long Term Cold Injury]. *Vestnik e'ksperimental'noj i klinicheskoy khirurgii*, 7(4), 359–363. [in Russian].
- [9] Maliuk, E. A., Tseluyko, S. S., & Krasavina, N. P. (2015). Strukturnye izmeneniya kozhi konechnostej krysa pri mestnom okhlazhdenii na fone primeneniya antioksidanta [Structural changes in the limbs skin in rats at local cold exposure during treatment with antioxidants]. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal*, 2, 101–105. [in Russian].
- [10] Bondarev, Ye. V., & Shtrygol, S. Yu. (2010). Skrinigove doslidzhennia gliukozaminu hidrokhlorydu v yakosti zasobu frihoptektornoj dii [Screening study of glucosamine hydrochloride as a means of frigo-protective action]. *Klinichna farmacia*, 14(4), 47–49. [in Ukrainian].
- [11] Bondarev, Ye. V., Shtrygol, S. Yu., Zupanets, I. A., & Otrishko, I. A. (2017). Ahrehtsiia trombotsytiv pid vplyvom preparativ hliukozaminu hidrokhlorydu ta atsetylsalytsylovoi kysloty pry hostrii kholodovii travmi [Platelet aggregation under the action of drugs of glucosamine hydrochloride and acetylsalicylic acid in acute cold injury]. *Klinichna farmatsiia*, 21(1), 50–56. [in Ukrainian]. doi: 10.24959/cphj.17.1411.
- [12] Bondarev, E. V., & Shtrygol, S. Yu. (2010). Vplyv hliukozaminu hidrohloridu na stan tsentralnoi nervovoi systemy ta fizychnu vytrivalist myshej pislia pislia hostroho zahalnoho okholozhennia [Effect of glucosamine hydrochloride on central nervous system and physical endurance of mice after acute general cooling]. *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal*, 5(10), 60–65. [in Ukrainian].
- [13] Bondarev, Ye. V., Shtryhol, S. Yu., Piminov, O. F., & Domar, N. A. (patentee) (2010). Patent 52370, Ukraine, A61K 31/726, A61R 43/00 (2009). Zastosuvannia hliukozaminu hidrohloridu yak zasobu frihoptektornoj dii [Patent 52370, Ukraine, A61K 31/726, A61R 43/00 (2009). Application of glucosamine hydrochloride as a means of free-protective action]. *Biuletyn*, 16. [in Ukrainian].
- [14] Mironova, A. N. (Ed) (2012). *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv [Guidelines for preclinical drug research]*. Part 1. Moscow: Grif i K. [in Russian].
- [15] Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patologigistologicheskoy tekhniki [Course of pathological histology]*. Moscow: Medicina, Leningr. otdelenie. [in Russian].
- [16] Khalafyan, A. A. (2007). *STATISTICA 6. Statisticheskij analiz dannykh [STATISTICA 6. Statistical analysis of the data]*. Moscow : Binom-Press. [in Russian].
- [17] Zorin, N. A., & Sluckij, L. I. (1977). Biokhimicheskie i morfologicheskie issledovaniya processa otmorozeniya v e'ksperimente [Biochemical and morphological studies of the frostbite process in the experiment]. *Nauchnye trudy Rzhskogo NII travmatologii i ortopedii*. (P. 129–141). Riga. [in Russian].
- [18] Pinson, I. Ya. (1999). *Strukturnye i funktsional'nye kharakteristiki kozhi posle vliyaniya nizkih temperatur i PEO-1500* (Avtoref. dis...kand. med. nauk) [Structural and functional characteristics of the skin after the influence of low temperatures and PEO-1500 (Extended abstract of candidate's thesis). Kharkiv. [in Russian].
- [19] Pigolkin, Yu. I., Barinov, E. Kh., Bogomolov, D. V., & Bogomolova, I. N. (2002). *Sudebnaya medicina [Forensic Medicine]*. Moscow: GE'HO-TAR-MVD. [in Russian].