



УДК: 616-001.18:616.15:547.459.5:159.23:639.028

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1024-1035](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1024-1035)

Юхимчук Алла Володимирівна аспірант кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018, <https://orcid.org/0009-0003-3406-2664>

Волощук Наталія Іванівна доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018, <https://orcid.org/0000-0002-0166-9676>

ВПЛИВ ГЛЮКОЗАМІНУ НА КОАГУЛЯЦІЙНИЙ ТА АГРЕГАНТНИЙ ГЕМОСТАЗ У САМЦІВ ТА САМОК ЩУРІВ ЗА ГОСТРОЇ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ

Анотація. На сьогодні залишається багато невивчених чинників, які можуть впливати на стійкість до холоду. До них можна віднести вік, стать, професійна діяльність, та, навіть, національність. Зокрема, дані про статевий диморфізм реакцій на дію холоду відрізняються контрверсійністю, а роль статі у відповіді на фригопротекторну терапію є маловивченою. Метою роботи стало встановлення статевих відмінностей в системі гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів щурів за гострої холодової травми та на тлі корекції глюкозаміну гідрохлоридом. Досліди проведені на 54 статевозрілих щурах обох статей. Статевий цикл самок визначали за допомогою вагінальних мазків, в дослідження брали щурів в фазі проєструсу. Тварини утримувались в стандартних умовах віварію з доступом до води та їжі *ad libitum*. Гостру холодову травму моделювали шляхом утримання тварин протягом 2 годин при -18°C . Після припинення дії холоду через 2 доби тваринам проводили декапітацію та визначали показники внутрішнього та зовнішнього шляхів зсідання крові, а також спонтанну та АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів. У інтактних щурів існує статева різниця в показниках тромбоцитарного, але не коагуляційного гемостазу. В якості фригопротектора використовували глюкозамін гідрохлорид (субстанція, Sigma), дозою 50 мг/кг в/шл. Контрольна група тварин отримувала дистильовану воду в еквівалентній кількості. Статистичну обробку результатів проводили в програмі «STATISTICA 6.0». Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$. Встановлено, що експериментальна гостра холодова травма викликає статистичне зростання





показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також спонтанну та АДФ-стимульовану агрегацію тромбоцитів, що свідчить про активацію тромбоутворення та підвищення ризик розвитку ДВЗ синдрому, в більшій мірі у самців щурів. На тлі попереднього введення глюкозаміну гідрохлориду зсув системи гемокоагуляції був менш виразним, особливо у тварин чоловічої статі. Введення фригопротектора протидіяло тромботичним змінам, в більшій мірі у самців щурів і практично нівелювало статеві відмінності показників згортання крові на тлі гострого загального охолодження.

Ключові слова: статеві відмінності, холодова травма, коагуляція крові, агрегація тромбоцитів, глюкозамін, щури.

Yukhymchuk Alla Volodymirivna aspirant of the department of pharmacology, Vinnytsia National Medical University named after M.I. Pyrogov, Pirogov St., 56, Vinnytsia, 21018, <https://orcid.org/0009-0003-3406-2664>

Voloshchuk Nataliia Ivanivna Doctor of medical sciences, professor, head of the department of pharmacology, Vinnytsia National Medical University named after M.I. Pyrogov, Pirogov St., 56, Vinnytsia, 21018, <https://orcid.org/0000-0002-0166-9676>

INFLUENCE OF CLUCOZAMINE ON COAGULATION END AGGREGATIVE HEMOSTASIS IN MALE AND FEMALE RATS WITH ACUTE COLD INJURY

Abstract. Currently, there are many unexplored factors that can affect cold resistance, including age, gender, professional activity, and even nationality. However, the data on gender dimorphism in responses to cold exposure are controversial, and the role of gender in the response to frigoprotective therapy has not been studied properly. The aim of the study was to establish gender differences in the hemocoagulation and platelet aggregation system in rats with acute cold injury and on the background of glucosamine hydrochloride correction. The experiments were conducted on 54 sexually mature rats of both genders. The estrous cycle in females was determined using vaginal smears, and the study included rats in the proestrus phase. The animals were kept under standard vivarium conditions with ad libitum access to water and food. The acute cold injury was simulated by exposing the animals to -18°C for 2 hours. After cessation of cold exposure, decapitation was performed 2 days later, and the indicators of intrinsic and extrinsic blood coagulation pathways, as well as spontaneous and ADP-induced platelet aggregation, were





determined. In intact rats, there is gender dimorphism in platelet, but not in coagulation, hemostasis parameters. Glucosamine hydrochloride (Sigma substance) was used as a cryoprotector at a dose of 50 mg/kg intraperitoneally. The control group of animals received distilled water in equal volume. The statistical analysis of the results was performed using the "STATISTICA 6.0" program, with differences considered significant at $p < 0.05$. It was established that the experimental acute cold injury caused a statistically significant increase in indicators of extrinsic and intrinsic coagulation hemostasis, as well as spontaneous and ADP-stimulated platelet aggregation, indicating the activation of thrombosis and an increased risk of DIC syndrome development, especially in male rats. Against the background of prior administration of glucosamine hydrochloride, the shift in the hemocoagulation system was less pronounced, especially in male animals. Frigoprotector administration counteracted thrombotic changes, especially in male rats, and practically leveled gender differences in blood clotting parameters against the background of acute general cooling.

Keywords: gender differences, cold injury, blood coagulation, platelet aggregation, glucosamine, rats.

Постановка проблеми. Холодова травма (ХТ) — це пошкодження тканин, яке виникає внаслідок впливу холоду, що відбувається при температурах нижче нуля градусів за Цельсієм. Вплив холоду може призвести до різноманітних травм, які виникають внаслідок нездатності людини адаптуватися до холоду. Бездомні, діти та люди похилого віку особливо вразливі до обмороження. Тривала дія холоду, як і гострий вплив низьких температур підвищують ризик обмороження та ступінь травми. Механізми периферичного холодового ураження можна розділити на явища, які впливають на клітини та позаклітинні рідини (прямі ефекти), і ті, що порушують функцію організованої тканини та цілісність кровообігу (непрямі ефекти) [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Порушення кровообігу займає провідну роль в патогенезі холодового некрозу. Ключова роль належить рефлекторним судинним реакціям в зоні ураження. При загальному охолодженні організму переважають загальні судинні реакції, а при місцевому охолодженні – в ділянці ураження [2, 3].

В лікуванні холодової травми використовують широке коло лікарських засобів, які отримали назву фригопротектори. Серед них виділяють: актопротектори, психостимулятори, ноотропні засоби, гепатопротектори, вітамінні препарати, нестероїдні протизапальні засоби, антиоксиданти, детоксикуючі засоби, біогенні стимулятори, анксіолітики, альфа-адреноблокатори, рослинні





комплекси [4, 5]. Згідно експериментальних досліджень, високу ефективність показав препарат глюкозаміну гідрохлорид [6]. На сьогодні залишається багато невивчених чинників, які можуть впливати на стійкість до холоду. До них можна віднести вік, стать, професійна діяльність, та, навіть, національність. Зокрема, дані про статевий диморфізм реакцій на дію холоду відрізняються контраверсійністю, а роль статі у відповіді на фригопротекторну терапію є маловивченою [7-9].

Мета статті. Дослідити статеві відмінності в системі гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів щурів за гострої холодової травми корекції глюкозаміну гідрохлоридом.

Матеріали та методи. Досліди проведені на 60 статевозрілих (3 місяці) щурах обох статей. Статевий цикл самок визначали за допомогою вагінальних мазків, в дослідження брали щурів в фазі проєструсу. Тварини утримувались в стандартних умовах віварію з доступом до води та їжі *ad libitum*. Гостру холодову травму (ГХТ) моделювали шляхом утримання тварин протягом 2 годин при -18°C . Після припинення дії холоду через 2 доби тваринам проводили декапітацію та визначали показники внутрішнього та зовнішнього шляхів зсідання крові визначали активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) та протромбіновий час (ПЧ), а оцінки кінцевого етапу зсідання крові - тромбіновий час (ТЧ) з використанням відповідних наборів «АЧТЧ-тест», «ПЧ-тест» та «Тромбо-тест» (Діас-Плюс, Харків). Антикоагулянтну ланку системи гемостазу характеризували за активністю інгібітора зсідання крові протеїну С, який визначали стандартним набором «Хромо-протеїн С» (Діас-Плюс, Харків). Систему фібринолізу оцінювали за вмістом ПАІ-1 (інгібітору активатору плазміногену 1), який визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за набором «Zymutest Rat - PAI-1 (Antigen)», Франція, на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Агрегацію тромбоцитів (АТ) оцінювали у зразках плазми крові, збагаченої тромбоцитами (ПЗТ), яку отримували центрифугуванням цитратної крові при 300 g упродовж 5 хв при $18-22^{\circ}\text{C}$. АТ реєстрували на агрегометрі AP2110 (Солар, Білорусь), який з'єднаний з персональним комп'ютером. В якості індуктора застосовували АДФ в кінцевій концентрації 5 мкМ. Оцінювали наступні показники: спонтанну АТ (%), ступінь АДФ-індукованої АТ (%) та швидкість АДФ-індукованої АТ (% за 1 хв).

В якості фригопротектора використовували глюкозаміну гідрохлорид (субстанція, Sigma), дозою 50 мг/кг в/шл. Контрольна група тварин отримувала дистильовану воду в еквіоб'ємній кількості. Статистичну обробку результатів проводили в програмі «STATISTICA 6.0». Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$.





Виклад основного матеріалу. Виявлено, що у тварин контрольної групи не було виявлено статевих відмінностей в усіх показниках, які характеризували коагуляційний гемостаз (табл.1). Натомість показники спонтанної та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів (АТ) у самок щурів були статистично меншими, аніж у самців на 20,9 та 26,9 %, відповідно ($p < 0,05$).

Після ГХТ у самців та самок щурів зареєстровані статистично вірогідні зміни показників, які свідчать про посилення коагуляційних процесів та зниження антикоагулянтної ланки гемостазу, при чому виразність цих процесів була більше яскравою у самців (див табл. 1). Так, у тварин цієї статі зареєстровано статистично вірогідне збільшення показників ПЧ та ПАІ-1 в 3,0 та 2,04 рази, відповідно, з одночасним скороченням АЧТЧ та вмісту протейну С – на 28,4, 27,4 та 18,4 %, відповідно ($p < 0,05$). Натомість у самок зростання ПЧ та ПАІ-1 було менш виразним – лише в 2,65 та 1,84 рази, тоді як показники АЧТЧ, ТЧ та протейн С зменшувались на 19,9, 21,6 та 15,3%, відповідно ($p < 0,05$). Підвищення вмісту цього показника, разом із суттєвим зменшенням протейну С (основного фізіологічного антикоагулянта) свідчить про розвиток тромбофілії.

Одночасно із порушенням процесів коагуляції, ГХТ сприяла активації спонтанної агрегації тромбоцитів (на 70,4% у самців та на 51,3% у самок ($p < 0,05$)). Причиною цього спричинені холодовою травмою зміни складу плазми крові та підвищення рівня в крові ряду біологічно активних речовин (кініни, серотонін, гістамін та їх деривати), які обумовлюють підвищену схильність тромбоцитів до формування агрегатів. Значне підвищення зареєстровано також і при визначенні показників АДФ-індукованої АТ, оскільки механізм підвищеного тромбоутворення зумовлений розвитком одного з найбільш важливих шляхів активації тромбоцитів – утворенням в результаті каскаду арахідонової кислоти тромбоксану A_2 , який здійснює позитивний зворотній зв'язок, а саме, рекрутує велику кількість фібриногенових рецепторів $GP_{IIb/IIIa}$ та посилює сигнал активації, який передається до внутрішніх ефекторних структур клітини. Наявність запального процесу, який активно залучений в патогенезі ГХТ, супроводжується зростанням кількості дериватів арахідонової кислоти [10], що пояснює прискорення саме АДФ-стимульованої агрегації. Зростання цього показника також переважало у самців щурів. Ступінь та швидкість активованої АТ у цих тварин після ГХТ збільшувалась на 67,3 та 40,0%, відповідно, тоді як у самок ці показники збільшувались на 42,6 та 28,0 %, відповідно ($p < 0,05$).





Зазначені зміни свідчать про значні порушення системи коагуляційного та тромбоцитарно-агрегаційного гемостазу, які викликала дія холоду, які притаманні в більшій мірі особинам чоловічої статі. Отримані нами результати цілком співставляються із даними літератури [6, 11], і є результатом судинних реакції організму на дії холодового чинника. Судинні зміни розвиваються в декілька етапів. На першому етапі відбувається рефлекторний спазм судин, на другому – вазодилатація, як наслідок виходу в кров специфічних медіаторів. І на останок знову розвивається спазм. Розширення судин має захисний механізм при дії холоду на організм і попереджає розвиток ішемії. Спазм судин розповсюджується від периферії до центру, проте в термінальному руслі формується стійкий парез, що призводить в подальшому до розвитку набряку [12]. Тривалий спазм судин супроводжується пошкодженням ендотелію з наступним розвитком тромбозу. Після зігрівання тканин спостерігається масове утворення тромбів в судинах, що пов'язано з підвищеною активністю як тромбоцитарно-судинного так і коагуляційного гемостазу [13, 14].

На нашу думку, головною причиною існування гендер-специфічних порушень в системі згортання крові та агрегації тромбоцитів за експериментальної ГХТ є вплив гонадальних гормонів. Саме естрогени в фізіологічних кількостях завдяки негеномним ефектам, що реалізуються через зв'язування з β -естроновими цитоплазматичними рецепторами, виявляють протизапальну антиоксидантну та вазодилатуючу дію, які суттєво протидіють негативному впливу екстремального чинника на жіночий організм [15, 16].

Профілактичне введення глюкозаміну протидіяло порушенням згортальної системи крові, спричинених ГХТ, у тварин обох статей, при чому в більшій мірі – у самців щурів (див. табл. 1). Так, на тлі введення аміноцукру показник АЧТЧ у самців та самок цієї групи тварин був на 50,4 та 45,3% меншим, порівняно з нелікованими тваринами відповідної статі, а АЧТЧ, ТЧ та протейн С – відповідно, на 24,2, 24,8, 15,8 у самців та на 14,4, 14,5 та 11,9% у самок більшими в порівнянні з ГХТ без корекції. Статистично вірогідних відмінностей між самцями та самками щурів на тлі введення глюкозаміну гідрохлориду не було відмічено.





Таблиця 1

Параметри згортання крові у тварин за гострої холодової травми і на тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду ($M \pm m$, $n=10$)

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	ПЧ, с	17,7 \pm 0,23	17,9 \pm 0,30
2	АЧТЧ, с	34,1 \pm 0,95	34,7 \pm 0,61
3	ТЧ, с	9,65 \pm 0,19	9,78 \pm 0,22
4	Протеїн С, %	101 \pm 1,38	103 \pm 1,26
5	ПАІ-1, нг/мл	1,70 \pm 0,13	1,60 \pm 0,11
Гостра холодова травма			
1	ПЧ, с	53,4 \pm 0,78#	47,5 \pm 0,62*#
2	АЧТЧ, с	24,4 \pm 1,12#	27,8 \pm 1,05*#
3	ТЧ, с	7,01 \pm 0,23#	7,74 \pm 0,25*#
4	Протеїн С, %	82,4 \pm 1,56#	87,2 \pm 1,44*#
5	ПАІ-1, нг/мл	3,48 \pm 0,15#	2,95 \pm 0,16*#
Гостра холодова травма + Глюкозаміну гідрохлорид			
1	ПЧ, с	26,5 \pm 0,27#	26,0 \pm 0,32#\$
2	АЧТЧ, с	30,3 \pm 1,02#\$	31,8 \pm 0,79#\$
3	ТЧ, с	8,75 \pm 0,26#\$	8,86 \pm 0,30#\$
4	Протеїн С, %	95,4 \pm 1,44#\$	97,6 \pm 1,37#\$
5	ПАІ-1, нг/мл	2,45 \pm 0,17#\$	2,30 \pm 0,15#\$

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
2. # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
3. \$ - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з гострою холодовою

травмою.





Таблиця 2

Параметри агрегації тромбоцитів у тварин за гострої холодової травми і на тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду ($M \pm m$, $n=10$)

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	Спонтанна АТ, %	$4,02 \pm 0,30$	$3,18 \pm 0,25^*$
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	$35,2 \pm 1,65$	$30,3 \pm 1,42^*$
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, %, % за 1 хв	$29,5 \pm 1,05$	$25,7 \pm 1,17^*$
Гостра холодова травма			
1	Спонтанна АТ, %	$6,85 \pm 0,54^\#$	$4,81 \pm 0,36^{\#*}$
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	$58,9 \pm 1,87^\#$	$43,2 \pm 1,67^{\#*}$
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, %, % за 1 хв	$41,3 \pm 1,36^\#$	$32,9 \pm 1,29^{\#*}$
Гостра холодова травма + Глюкозаміну гідрохлорид			
1	Спонтанна АТ, %	$5,01 \pm 0,35^{\#\$}$	$3,95 \pm 0,20^{\#\$}$
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	$42,8 \pm 1,74^{\#\$}$	$36,8 \pm 1,48^{\#\$}$
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, %, % за 1 хв	$33,0 \pm 1,15^{\#\$}$	$29,1 \pm 1,06^{\#\$}$

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
2. # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
3. \$ - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з гострою холодовою травмою.

Результати дослідження впливу глюкозаміну на стан агрегації тромбоцитів показав чітко виражену нормалізуючу дію цього аміноцукру на показники як спонтанної, так і АДФ-індукованої АТ (див. табл. 2). Антиагрегантна дія проявлялась у тварин обох статей, на тлі попереднього введення глюкозаміну ступінь підвищення досліджуваних показників в у самців та самок щурів групи ГХТ + глюкозаміну гідрохлорид відрізнялась від тварин контрольної групи практично в однаковій мірі (на 24% - показник спонтанної АТ), на 11-13% - показник АДФ-індукованої АТ. Патерн статевої різниці між тваринами (переважання процесів агрегації у самців) за даних умов експерименту зберігався, хоча ця різниця не сягала статистично вірогідних значень.





Виразна фригопротекторна дія глюкозаміну детально досліджена в роботах [6, 17], згідно яких вона реалізується за рахунок підвищення резистентності організму тварин до негативного впливу низьких температур, відновлення порушень ЦНС, енергетичного та вуглеводного обміну, усунення метаболічного ацидозу, імунотропної дії, а саме зменшення дисбалансу протизапальних цитокінів, зниження активності симпато-адреналової системи, модуляції М-холінергічних та $\alpha 1$ -адренергергічних систем. Певний внесок до механізму фригопротекторної дії роблять також антиоксидантні, протизапальні, мембраностабілізуювальні, гепато-, нефро-, кардіопротекторні та репаративні властивості глюкозаміну [6, 18, 19]. Отримані дані доповняють дані про можливість використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці ХТ різної етіології та дозволяють розширити показання до медичного застосування Г г/х, який до цього часу використовується переважно з хондропротекторною метою.

Висновки: У інтактних щурів існує статеві різниця в показниках тромбоцитарного, але не коагуляційного гемостазу. Експериментальна ГХТ викликає статистичне зростання показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також спонтанну та АДФ-стимульовану агрегацію тромбоцитів, що свідчить про активацію тромбоутворення та підвищення ризик розвитку ДВЗ синдрому, в більшій мірі у самців щурів. Глюкозаміну гідрохлорид протидіяв порушенням в системі гемокоагуляції та агрегації у тварин обох статей, проте його ефект був більш виразним у самців щурів. Введення фригопротектора практично нівелювало статеві відмінності показників згортання крові та агрегації тромбоцитів, викликаних гострим загальним охолодженням.

Література:

1. Frostbite. [Електронний ресурс] / Н. Basit, T.J. Wallen, C. Dudley, StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. - 2023. – Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536914/>.
2. Tyler C.J. Cold-induced vasodilation during single digit immersion in 0°C and 8°C water in men and women. / C.J.Tyler, T. Reeve, S.S. Cheung // PLoS One. – 2022 - 17(9) - P. e0275188. doi: 10.1371/journal.pone.0275188
3. Rauch S. Critically buried avalanche victims can develop severe hypothermia in less than 60 min / S. Rauch, J. Kompatscher, A. Clara, I. Ött, G. Strapazzon, M. Kaufmann // Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med. – 2023. 31(1). – P.29. doi: 10.1186/s13049-023-01092-y.
4. McIntosh, S.E. Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Frostbite: 2019 Update. / S.E. McIntosh, L. Freer, C.K. Grissom, P.S. Auerbach, G.W. Rodway, A. Cochran // Wilderness & Environmental Medicine. – 2019. - 30(4S). – P. S19eS32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.05.002>.
5. Бондарев Є. В. Фригопротектори / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // Фармацевтична енциклопедія, видання третє, доповнене. К: Моріон, 2016. -С. 1816-1817.





6. Бондарев Є. В. Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами метаболітотропної та протизапальної дії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фарм. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Є.В. Бондарев. – Харків : НФаУ, 2020. – 44 с.
7. Endorf F.W. High Cost and Resource Utilization of Frostbite Readmissions in the United States / F.W. Endorf, R.M. Nygaard // J. Burn Care Res. – 2021. – Vol.42, №5. – P.857-864. doi: 10.1093/jbcr/irab076.
8. Nagarajan S. Update: Cold weather injuries, active and reserve components, U.S. Armed Forces, July 2010-June 2015 / S. Nagarajan // MSMR. – 2015. - №10, 7-12.
9. Stjernbrandt A. Neurovascular hand symptoms in relation to cold exposure in northern Sweden: a population-based study / A. Stjernbrandt, B. Björ, M. Andersson, L. Burström, Liljelind I., T. Nilsson, R. Lundström, J. Wahlström. // Int Arch Occup Environ Health. – 2017. - № 90(7). – P. 587-595. doi: 10.1007/s00420-017-1221-3.
10. Kapelka I. Effect of arachidonic acid cascade inhibitors on body temperature and cognitive functions in rats in the Morris water maze after acute cold injury / Kapelka I, Shtrygol S, Koïro O, Merzlikin S, Kudina O, Yudkevych T.. // Pharmazie. - 2021. – Vol. 76, №7. – P. 313-316. doi: 10.1691/ph.2021.1571
11. Gao Y. Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite [Електронний ресурс] / Y.Gao, F.Wang, W. Zhou, S. Pan // Eur J Radiol. – 2021. – 137. - 109605. – Режим доступу: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33621855/> doi: 10.1016/j.ejrad.2021. 109605.
12. Thorsen K. Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury / K. Thorsen, K.G. Ringdal, K. Strand, E. Søreide, J. Hagemo, K. Søreide // Br J Surg. – 2011. – Vol. 98, №7. – P. 894-907. doi: 10.1002/bjs.7497.
13. Tipton M. Non-freezing cold injury: A little-known big problem / M. Tipton, C. Eglin // Exp physiol. – 2023. Tipton M., Eglin C. Vol.108, №3. – P.329-330. doi: 10.1113/EP091139.
14. Maley M.J. Role of cyclooxygenase in the vascular responses to extremity cooling in Caucasian and African males / M.J. Maley, J.R. House, M.J. Tipton C.M. Eglin // Exp Physiol. – 2017. Vol.102, №7, - P.854-865. doi: 10.1113/EP086186
15. Fuentes N. Estrogen receptor signaling mechanisms / N. Fuentes, P. Silveyra // Adv Protein Chem Struct Biol. – 2019. - №116. – P.135-170. doi: 10.1016/bs.apcsb.2019.01.001.
16. Tsialtas I. Anti-Apoptotic and Antioxidant Activities of the Mitochondrial Estrogen Receptor Beta in N2A Neuroblastoma / I. Tsialtas., A. Georgantopoulos, M.E. Karipidou, F.D. Kalousi, A.G. Karra, D.D. Leonidas, // Cells Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22, №14. – P. 7620. doi: 10.3390/ijms22147620.
17. Бондарев Е.В., Штрыголь С.Ю. Антигипотермические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы. Вестник фармации. 2016. №3 (73). С.92- 97
18. Xing R. The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro / R. Xing, S. Liu, Z. Guo, H. Yu, C. Li, X. Ji, J. Feng, P. Li // Bioorg Med Chem. – 2006. – Vol.14, №6. – P.1706-1709. doi: 10.1016/j.bmc.2005.10.018. Epub 2005 Nov 2
19. Shebeko S.K., Zupanets I.A., Popov O.S. N-Acetylglucosamine is the most effective glucosamine derivative for the treatment of membranous nephropathy in rats / S.K. Shebeko, I.A. Zupanets, O.S. Popov // Pharmazie. – 2019. – Vol.74, №11. – P. 667-670. doi: 10.1691/ph.2019.9733.

References:

1. Basit, H, Wallen, T.J. & Dudley, C. *Frostbite*. (2023) In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 30725599. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536914/> [in USA].





2. Tyler, C.J., Reeve, T. & Cheung, S.S. (2022). Cold-induced vasodilation during single digit immersion in 0°C and 8°C water in men and women. *PLoS One*. 17(9), e0275188. doi: 10.1371/journal.pone.0275188 [in USA].

3. Rauch, S., Kompatscher, J., Clara, A., Ött I., Strapazzon, G., & Kaufmann, M. (2023). Critically buried avalanche victims can develop severe hypothermia in less than 60 min. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.*, 31(1), 29. doi: 10.1186/s13049-023-01092-y [in USA].

4. McIntosh, S.E., Freer, L., Grissom, C.K. Auerbach, P.S., Rodway, G.W. & Cochran, A. (2019) Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Frostbite: 2019 Update. *Wilderness & Environmental Medicine*, 30(4S), S19eS32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.05.002>. [in USA].

5. Bondariev Ye. V., & Shtryhol S. Yu. (2016). Fryhoprotektory. [Frigoprotectors]. *Farmatsevtichna entsyklopediia, vydannia tretie, dopovnene - Pharmaceutical Encyclopedia, third edition, updated. K: Morion*, 1816-1817 [in Ukrainian].

6. Bondariev, Ye. V. (2020). Eksperymentalne obgruntuvannia optymizatsii profilaktyky ta likuvannia kholodovoi travmy zasobamy metabolitotropnoi ta protyzapalnoi dii [Experimental substantiation of optimization of cold injury prevention and treatment with the preparations targeting metabolism and inflammation]. (*Dys. dokt. farm. nauk*). *Natsionalnyi farmatsevtichniy universytet, Kharkiv - The thesis for a Doctor of Pharmaceutical Sciences Degree by the specialty 14.03.05 – «Pharmacology»*. – *National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv*. [In Ukrainian].

7. Endorf, F.W., & Nygaard, R.M. (2021). High Cost and Resource Utilization of Frostbite Readmissions in the United States. *J Burn Care Res*, 42(5), 857-864. doi: 10.1093/jbcr/irab076 [in USA].

8. Nagarajan, S. (2015). Update: Cold weather injuries, active and reserve components, U.S. Armed Forces, July 2010 - June 2015. *MSMR.*, 10, 7-12 [in USA].

9. Stjernbrandt, A., Björ, B., Andersson M., Burström L., Liljelind, I.T., Nilsson, R. et al. (2017). Neurovascular hand symptoms in relation to cold exposure in northern Sweden: a population-based study. *Int Arch Occup Environ Health*, 90(7), 587-595. doi: 10.1007/s00420-017-1221-3. [in USA].

10. Kapelka, I., Shtrygol, S., Koiro, O., Merzlikin, S., Kudina, O., & Yudkevych, T. (2021). Effect of arachidonic acid cascade inhibitors on body temperature and cognitive functions in rats in the Morris water maze after acute cold injury. *Pharmazie*, 76(7), 313-316. doi: 10.1691/ph.2021.1571[in USA].

11. Gao, Y., Wang, F., Zhou, W. & Pan, S. (2021). Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite. *Eur J Radiol.*, 137, 109605. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33621855/> doi: 10.1016/j.ejrad.2021.109605. [in USA].

12. Thorsen, K., Ringdal, K.G., Strand, K., Søreide, E., Hagemo, J., & Søreide, K. (2011). Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury. *Br J Surg.*, 98(7), 894-907. doi: 10.1002/bjs.7497. [in USA].

13. Tipton, M., & Eglin, C.(2023). Non-freezing cold injury: A little-known big problem. *Exp physiol*, 108(3), 329-330. doi: 10.1113/EP091139 [in USA].

14. Maley, M.J., House, J.R., Tipton, M. J. & Eglin, C. M. (2017). Role of cyclooxygenase in the vascular responses to extremity cooling in Caucasian and African males. *Exp Physiol.*, 102(7), 854-865. doi: 10.1113/EP086186 [in USA].

15. Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 116, 135-170. doi: 10.1016/bs.apcsb.2019.01.001 [in USA].

16. Tsialtas, I., Georgantopoulos, A., Karipidou, M.E., Kalousi, F. D., Karra, A.G., & Leonidas D.D., (2021). Anti-Apoptotic and Antioxidant Activities of the Mitochondrial Estrogen Receptor Beta in N2A Neuroblastoma Cells. *Int J Mol Sci.*, 22(14), 7620. doi: 10.3390/ijms22147620 [in USA].





17. Bondarev E.V., & Shtryhol S.Iu. (2016) Antyhypotermicheskiye y antyoksydantnye svoystva hliukozamyna hydrokhloryda y atsetylsalytsylovoi kysloty v usloviakh ostoroi kholodovoi travmy. [Antihypothermic and antioxidant properties of glucosamine hydrochloride and acetylsalicylic acid in acute cold injury]. *Vestnyk farmatsyy -Bulletin of Pharmacy*, 3, 92- 97 [in Russian].

18. Xing, R., Liu, S., Guo, Z., Yu, H., Li, C., Ji, X., Feng, J., & Li, P. (2006). The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro. *Bioorg Med Chem.*, 14(6), 1706-1709. doi: 10.1016/j.bmc.2005.10.018. [in USA].

19. Shebeko, S.K., Zupanets, I.A., & Popov, O.S. (2019). N-Acetylglucosamine is the most effective glucosamine derivative for the treatment of membranous nephropathy in rats. *Pharmazie*, 74(11), 667-670. doi: 10.1691/ph.2019.9733 [in USA].

