

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Юхимчук Алли Володимирівни

УДК: 547.459.5:616-001.18:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ РЕОВАЗОТРОПНОЇ ДІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ
ГІДРОХЛОРИДУ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

222 – Медицина

(22 – Охорона здоров'я)

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Підписано КЕП А.В. Юхимчук

Наукові керівники: Волощук Наталія Іванівна,
доктор медичних наук, професор

Штриголь Сергій Юрійович,
доктор медичних наук, професор

Вінниця – 2024

АНОТАЦІЯ

Юхимчук А. В. Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2024.

Дисертація присвячена вирішенню актуального наукового завдання, яке полягає в експериментальному обґрунтуванні нових підходів до фригопротекції на основі дослідження статевих особливостей судинних і гемореологічних порушень за гострої холодової травми (ГХТ) та на тлі корекції глюкозаміну гідрохлоридом.

Експерименти виконані на 66 білих нелінійних мишах масою 23-25 г та 290 щурах лінії Wistar масою 260-290 г статевозрілого віку, різної статі, що утримувались згідно з санітарними нормами на стандартному раціоні віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова з дотриманням чинних вимог етичного поводження з тваринами.

Відповідно до мети та завдань дослідження всі експериментальні тварини були поділені на такі групи: 1) самці та самки мишей без змін гормонального статусу (контроль), яким відтворювали ГХТ; 2) самці та самки тварин, яким була виконана гонадектомія (тестектомія або оваріектомія, відповідно), а через 21 день – ГХТ; 3) статевозрілі тварини обох статей, яким внутрішньошлунково (в/ш) вводили глюкозаміну гідрохлорид перед та/або після ГХТ; 4) група – кастровані тварини обох статей, яким профілактично вводили глюкозаміну гідрохлорид у вищезазначеному режимі. Самцям і самкам препарат вводили в один і той же день, в однакових дозах та режимах введення. Контрольні самки та самці замість досліджуваної речовини отримували відповідну кількість розчинника.

У ході роботи проведене детальне дослідження статевих відмінностей судинної відповіді організму на гостре загальне охолодження, оцінено роль гонадальних гормонів у реалізації цих відмінностей та вивчено стать-специфічні особливості фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду в мишей та щурів за умов ГХТ.

У скринінгових дослідженнях підтверджено, що тривалість життя інтактних самок мишей за умов експериментальної гострої холодової травми більше, ніж у самців (на 38,1 %, $p < 0,05$). Кастрація самців збільшує показник виживаності на 27,5 %, тоді як тривалість життя кастрованих самок мишей зменшується на 10,5 % порівняно зі статевозрілими тваринами ($p < 0,05$). Глюкозаміну гідрохлорид статистично вірогідно подовжував тривалість життя за гострого загального охолодження у тварин обох статей, однак його захисна дія була більш виразною в самців (збільшення показника виживаності у самців становила 38,6 % проти 9,78 % у тварин протилежної статі). Статеві відмінності у виживаності тварин за ГХТ на тлі дії глюкозаміну гідрохлориду нівелювались.

Гостра холодова травма викликає значне погіршення кровопостачання органів-мішеней у тварин обох статей з переважанням у самців. Кастрація тварин змінювала вектор статевих відмінностей мікроциркуляції та скоротливості судин на тлі гострої холодової травми в бік переважання патологічних процесів у кастрованих самок щурів. Глюкозаміну гідрохлорид вірогідно поліпшував кровопостачання та скоротливу здатність хвостових артерій у щурів обох статей, більшою мірою в самців: показники мікроциркуляції задніх кінцівок, вушних раковин та хвоста в самців порівняно з нелікованими тваринами збільшувалися на 60,4, 40,1 та 30,9 %, тоді як у самок – на 36,2, 6,50 та 20,7 % відповідно ($p < 0,05$), а ступінь ацетилхолін-ініційованого розслаблення фрагментів хвостових артерій самців коливався в межах 12,8-78,0 % проти 10,9-73,2 % у нелікованих тварин, тоді як у самок – в діапазоні 17,1-86,4 %, проти 15,2-83,3 % у нелікованих тварин.

Середньоєфективна концентрація ацетилхоліну підвищувалась відповідно на 16,6 % та на 28,2 % ($p < 0,05$) у самок та самців щурів.

Дістало подальшого розвитку вивчення змін в системі гемостазу на тлі дії холодового чинника в особин різної статі. Експериментальна ГХТ викликає статистично значуще зростання показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також спонтанної та АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів. Ці зміни більш виражені у тварин чоловічої статі. Кастрація тварин супроводжувалась змінами стать-специфічного вектору реологічних змін: у самців їх ступінь на тлі холодового чинника були вірогідно менш виразними порівняно із самками. Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду протидіяло порушенням згортальної системи крові, спричинених гострою холодовою травмою у тварин обох статей, більшою мірою в тварин чоловічої статі. Протромбіновий час у самців зменшувався на 50,3 %, тоді як у самок – на 29,6 % ($p < 0,05$) в порівнянні з показником за гострої холодової травми без корекції. Показники активованого часткового тромбoplastинового часу, тромбінового часу та рівень протеїну С у самців підвищувались на 24,2, 24,8, 15,8 % відповідно ($p < 0,05$), тоді як у самок – на 14,4, 14,5 та 11,9 % відповідно ($p < 0,05$) порівняно з нелікованим контролем. Поряд з цим глюкозаміну гідрохлорид нормалізував показники агрегації тромбоцитів у тварин обох статей (ступінь підвищення показників спонтанної та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів у самців та самок відрізнялась від такої у тварин контрольної групи однаковою мірою – на 24 % та 11-13 % ($p < 0,05$). Паттерн статевої різниці між тваринами (переважання процесів агрегації у самців) за даних умов експерименту зберігався, однак різниця не сягала статистично вірогідних значень.

Гостра холодова травма викликає низку біохімічних порушень з розвитком ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення, причому їх виразність була більшою у тварин чоловічої статі: на 3 добу після ГХТ у самців вміст H_2S , NO та активність СОД вірогідно знижувались на 30,1, 31,8 та 21,3 % відповідно (проти 19,9, 25,1 та 12,9 % у самок, $p < 0,05$), рівні

ендотеліну-1, sVCAM, IL-1 β та активність НАДФН-оксидази зростали відповідно на 45,0, 31,9, 227 та 43,6 % (проти 27,9, 143, 24,8 та 30,0 % у самок, $p < 0,05$) щодо контрольної групи. У кастрованих щурів ступінь виразності вказаних змін набував протилежної спрямованості. За лікувально-профілактичного введення на тлі гострої холодової травми глюкозаміну гідрохлорид виявляє антиоксидантну, ендотеліопротекторну та протизапальну активності з переважанням в особин чоловічої статі: вміст H₂S, NO та активність СОД у них порівняно з нелікованими тваринами вірогідно зростали на 22,8, 22,6 та 26,0 %, відповідно (проти 12,1, 14,8 та 12,3 % у самок, $p < 0,05$), а рівень sVCAM, IL-1 β та активність НАДФН-оксидази – навпаки, були меншими відповідно на 15,7, 46,9 та 11,4 % (проти 11,0, 22,2 та 12,3 % у самок, $p < 0,05$) щодо контролю. Статеві відмінності зазначених параметрів залишається, однак різниця в показниках між тваринами різної статі зменшується.

Отримані клінічні, біохімічні та електрофізіологічні дані знаходять своє підтвердження в морфологічних дослідженнях, за результатами яких ГХТ викликає порушення морфологічної будови шкіри хвоста у самців та самок щурів – значні дистрофічні зміни в епідермісі, дермі та нервових волокнах, порушення мікрогемодинаміки ішемічного характеру, еритро- та лейкостаз, мікротромбози, периваскулярний набряк, ознаки ендотеліальної дисфункції. Виразність вказаних мікроструктурних змін були більшою в самців тварин порівняно з самками. Глюкозаміну гідрохлорид за профілактично-лікувального застосування зменшував патологічні зміни гістоструктури шкіри тварин обох статей, хоча й не усував повністю дію патологічного чинника. Більш виразний фригопротекторний вплив аміноцукру відмічався у самців, а ступінь статевих відмінностей на тлі холодової травми за його впливу суттєво зменшувався.

Результати дослідження розширюють знання про фармакодинаміку глюкозаміну гідрохлориду в особин чоловічої та жіночої статі та доповнюють фармакологічне досвід цього препарату. Детальне дослідження ролі

гонадальних гормонів у формуванні статевих відмінностей та реалізацію фригопротекції дає змогу прогнозувати ефективність фармакотерапії ГХТ зазначеним лікарським засобом в осіб різної статі. Отримані дані дають теоретичні підстави для розробки рекомендації щодо персоніфікованого лікування холодкових травм в клінічних умовах.

Ключові слова: вплив термічних чинників, холодова травма, статеві відмінності, щури, естрадіол, тестостерон, кастрація, запалення, згортальна система крові, морфологічна структура, гідроген сульфід, нітроген монооксид, оксидативний стрес, глюкозамін, лікування

ANNOTATION

A. V. Yukhymchuk. Sex Differences in Reovasotropic Effect of Glucosamine Hydrochloride under Conditions of Acute Cold Injury (experimental study). - Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health care", specialty 222 - "Medicine". - Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, 2024.

The dissertation is devoted to solving an urgent scientific problem, which is to experimentally substantiate new approaches to frigoprotection based on the study of sex-specific features of vascular and rheological disorders in acute cold injury (ACI) and against the background of correction with glucosamine hydrochloride.

The experiments were performed on 66 white nonlinear mice weighing 23-25 g and 290 Wistar rats weighing 260-290 g of mature age, of different sexes, kept in accordance with sanitary standards on a standard diet of the vivarium of Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University in compliance with the current requirements for ethical treatment of animals. In accordance with the aims and objectives of the study, all experimental animals were divided into the following groups: 1) male and female mice without changes in hormonal status (control), which were subjected to ACI; 2) male and female animals that underwent

gonadectomy (testectomy or ovariectomy, respectively), and 21 days later they were subjected to ACI; 3) sexually mature animals of both sexes that were administered glucosamine hydrochloride intragastrically (i.g.) before and/or after ACI; 4) a group of castrated animals of both sexes that were prophylactically administered glucosamine hydrochloride in the above mentioned regimen. The male and female animals were administered the drug on the same day, in the same doses and regimens. The control female and male animals received an appropriate amount of solvent instead of the test substance.

In the course of this work, a detailed study of sex differences in the vascular response to acute generalized cooling was conducted, the role of gonadal hormones in the implementation of these differences was assessed, and sex-specific features of the frigoprotective effect of glucosamine hydrochloride in mice and rats under conditions of acute cold injury were studied.

For the first time, screening studies have shown that the life expectancy of female mice under experimental acute cold injury is 38.1 % longer than the one of males ($p < 0.05$). Castration of males increases the survival rate by 27.5 %, while the life expectancy of castrated female mice decreases by 10.5 % compared to mature animals ($p < 0.05$). Glucosamine hydrochloride statistically significantly prolonged the life expectancy in acute generalized cooling in animals of both sexes, but its protective effect was more pronounced in males (increase in survival rate in males was 38.6 % vs 9.78 % in animals of the opposite sex). Sex differences in the survival of animals after ACI against the background of glucosamine hydrochloride were leveled.

Acute cold injury causes a significant deterioration in blood supply to target organs in animals of both sexes with a predominance in males. Castration of animals changed the vector of sex differences in microcirculation and vascular contractility against the background of acute cold injury towards the predominance of pathological processes in castrated female rats. The administration of glucosamine significantly improved blood supply and contractility of the tail arteries in rats of both sexes, to a greater extent in males. i.e. the microcirculation parameters of the

hind limbs, ears and tail in males compared to untreated animals improved by 60.4, 40.1 and 30.9 %, while in females it was by 36.2, 6.50 % and 20.7 %, respectively ($p < 0.05$), and the degree of acetylcholine-induced relaxation of tail artery fragments in males ranged from 12.8-78 % against 10.9-73.2 % in untreated animals, while in females it was in the range of 17.1-86.4 %, against 15.2-83.3 % in untreated animals. The average effective concentration of acetylcholine increased by 16.6 and 28.2 % ($p < 0.05$) in female and male rats, respectively.

The study of changes in the hemostatic system under the influence of cold factor in individuals of different sexes was further developed. Experimental hypothermia causes a statistical increase in the parameters of external and intravascular coagulation hemostasis, as well as spontaneous and ADP-stimulated platelet aggregation. These changes are more pronounced in male animals. Castration of animals was accompanied by changes in the sex-specific vector of rheological changes, i.e. in males, the degree of changes against the background of the cold factor was significantly less pronounced compared to females. Prophylactic administration of glucosamine counteracted the disorders of the blood coagulation system caused by acute cold injury in animals of both sexes, to a greater extent in male animals. The prothrombin time in males decreased by 50.3%, while in females it was by 29.6 % ($p < 0.05$) compared to acute cold injury without correction. The activated partial thromboplastin time, thrombin time and protein C level in males increased by 24.2, 24.8, 15.8 %, respectively ($p < 0.05$), while in females it was by 14.4, 14.5 and 11.9 %, respectively ($p < 0.05$) compared to untreated animals. Along with this, glucosamine normalized platelet aggregation in animals of both sexes (the degree of increase in spontaneous and ADP-induced platelet aggregation in males and females differed from the control group to the same extent, by 24 % and 11-13 % ($p < 0.05$)). The pattern of sex difference between animals (predominance of aggregation processes in males) was preserved under these experimental conditions, but the difference did not reach statistically significant values.

Acute cold injury causes a number of biochemical disorders with the development of endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation, and their severity was greater in male animals, as on day 3 after ACI in males, the content of H₂S, NO and SOD activity significantly decreased by 30.1, 31.8 and 21.3 %, respectively (vs 19.9, 25.1 and 12.9 % in females, $p < 0.05$), levels of endothelin-1, sVCAM, IL-1 β and NADPH oxidase activity increased by 45.0, 31.9, 227 and 43.6 %, respectively (vs 27.9, 143, 24.8 and 30.0 % in females, $p < 0.05$) compared to the control group. In castrated rats, the degree of severity of these changes was of the opposite direction. Therapeutic and prophylactic administration of glucosamine in acute cold injury is accompanied by antioxidant, endothelioprotective and anti-inflammatory activities with predominance in males, as the content of H₂S, NO and SOD activity in them compared to untreated animals significantly increased by 22.8, 22.6 and 26.0 %, respectively (vs 12.1, 14.8 and 12.3 % in females, $p < 0.05$), and the level of sVCAM, IL-1 β and NADPH oxidase activity, on the contrary, were lower by 15.7, 46.9 and 11.4 %, respectively (vs 11.0, 22.2 and 12.3 % in females, $p < 0.05$) compared to the control group. Sex differences in these parameters remain, but the difference in indicators between animals of different sexes decreases.

The obtained clinical, biochemical and electrophysiological data are confirmed by morphological studies, according to which ACI causes a violation of the morphological structure of the tail skin in male and female rats, i.e. significant dystrophic changes in the epidermis, dermis and nerve fibers, ischemic microhemocirculation disorders, erythro- and leukostasis, microthrombosis, perivascular edema, signs of endothelial dysfunction. The severity of these microstructural changes was greater in males than in females. The prophylactic and therapeutic use of glucosamine hydrochloride reduced the manifestations of pathological changes in the morphostructure of the skin of animals of both sexes, although it did not completely eliminate the effect of the pathological factor. A more pronounced frigoprotective effect of the amino sugar was observed in males,

and the degree of sex differences in the background of cold injury under its influence was significantly reduced.

The results of the study expand our understanding of the pharmacodynamics of glucosamine hydrochloride in males and females and add to the pharmacological dossier of this drug. Detailed description study of the role of gonadal hormones in the formation of sex differences and the implementation of frigoprotection makes it possible to predict the effectiveness of pharmacotherapy of acute cold injury with this drug in individuals of different sexes. The obtained data provide theoretical grounds for the development of recommendations for personalized treatment of cold injuries in clinical settings.

Key words: influence of thermal factors, cold injury, sex differences, rats, estradiol, testosterone, castration, inflammation, blood coagulation system, morphological structure, hydrogen sulfide, nitric monoxide, oxidative stress, glucosamine, treatment

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Волощук, Н. І. & Юхимчук, А. В. (2023). Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. Фармакологія та лікарська токсикологія, 17(4), 248-254. <https://doi.org/10.33250/17.04.248>. **(Фахове видання України).**

2. Юхимчук, А. В. & Волощук, Н. І. (2023). Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегатний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми. «Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»), 16(34), 1024-1035. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1024-1035](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1024-1035). **(Фахове видання України).**

3. Yuhimchuk, A. V., Voloshchuk, N. I., Shtrygol' S. Yu., Nefodov, O. O., Piliponova, V. V., Oliinyk, Yu., Tepla, A. M. & Nefodova, O. O. (2023). Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury. *World of Medicine and Biology*, 4, 243-247. DOI:10.26724/2079-8334-2023-4-86-243-247. **(Фахове видання України. Видання включено до міжнародної наукометричної бази Web of Science).**

4. Волощук, Н. І., Юхимчук, А. В. & Штриголь, С. Ю. (2023). Морфологічні зміни шкіри самців та самок щурів на тлі гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. *Морфологія*, 17(4), 6-13. <https://morphology.dmu.ua/pro-zurnal/arhiv/2023-vol-17-4>. **(Фахове видання України).**

5. Волощук, Н. І., Юхимчук, А. В. (2023). Статевий диморфізм змін мікроциркуляції шкіри щурів на тлі гострої холодової травми. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. Експериментальна медицина*, 4(98), 21-27. <https://doi.org/10.25040/ecpb2023.04.021>. **(Фахове видання України).**

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Юхимчук, А. В. & Цигалко, К. Д. (2021). Статеві чинники розвитку експериментальної гострої холодової травми та захисної дії глюкозаміну. *Матеріали ХІХ науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2021»*, м. Вінниця, 15-17 квітня 2021 р., (с. 545-546).

7. Юхимчук, А. В. & Волощук Н. І. (2021). Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан периферичного кровообігу після гострої холодової травми у самців та самок щурів. *Матеріали ХІ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину»*, м. Вінниця, ТОВ «Твори», 12-13 листопада 2021 р., (с. 238-240).

8. Юхимчук, А. В. (2022). Статеві відмінності продукції нітроген монооксиду та гідроген сульфїду у інтактних щурів. *Збірник тез доповідей 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022»*, м. Запоріжжя, 17 травня 2022 р., (с. 74-75).

9. Юхимчук, А. В., Волощук. Н. І. & Штриголь, С. Ю. (2023). Вплив глюкозаміну на стан системи згортання крові у самців та самок щурів за гострої холодової травми. *Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Клінічна фармакологія сьогодні: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності»*, м. Вінниця, 9-10 листопада 2023 р., (с. 170-172).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	16
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1 РОЛЬ СТАТЕВИХ ЧИННИКІВ В РОЗВИТКУ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ ТА ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ФРИГОПРОТЕКТОРНОЇ ФАРМАКОТЕРАПІЇ (Огляд літератури).....	24
1.1 Статеві відмінності в поширеності та лікуванні патологічних станів.....	24
1.2 Сучасні погляди на патогенез холодової травми та підходи до її лікування.....	36
1.3 Глюкозаміну гідрохлорид як перспективний фригопротекторний засіб	42
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ, МОДЕЛІ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	47
2.1 Характеристика дослідних тварин та умови їх утримання, акліматизації та рандомізації.....	47
2.2 Методи дослідження.....	51
2.2.1. Моделювання гострої холодової травми.....	51
2.2.2. Модуляція гормонального статусу тварин	52
2.2.3. Електрофізіологічні методи дослідження.....	54
2.2.4. Біохімічні та гемостазіологічні методи дослідження	56
2.2.5. Морфологічні методи дослідження.....	58
2.2.6. Статистичні методи обробки отриманих результатів.....	59
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СТАТІ ТА РІЗНОГО РІВНЯ НАСИЧЕНОСТІ ОРГАНІЗМУ СТАТЕВИМИ ГОРМОНАМИ В ЧУТЛИВОСТІ ОРГАНІЗМУ ТВАРИН ДО ГОСТРОГО ЗАГАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ	61

3.1	Скринінгові дослідження виживаності статевозрілих мишей за гострої холодової травми	61
3.2	Вплив кастрації (оваріектомії та орхідектомії) на показники виживаності інтактних мишей за гострої холодової травми	62
3.3	Статеві відмінності динаміки мікроциркуляції різних ділянок тіла (хвоста, задніх кінцівок та вушних раковин) тварин за умов гострої холодової травми.....	64
3.4	Дослідження впливу статі та різної насиченості організму статевими гормонами на скоротливість хвостових артерій щурів за гострої холодової травми ...	68
3.5	Статеві особливості гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів у щурів за умов експериментальної гострої холодової травми.....	73
3.6	Вплив статі та різної насиченості організму статевими гормонами на функціональний стан ендотелію за умов гострої холодової травми	77
3.7	Морфологічні зміни шкіри у статевозрілих і кастрованих самців та самок щурів на тлі гострої холодової травми	82
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАХИСНОЇ ДІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ У ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ		
4.1	Вплив глюкозаміну гідрохлориду на виживаність статевозрілих та кастрованих мишей за умов ГХТ.....	96
4.2	Вплив глюкозаміну гідрохлориду на мікроциркуляцію хвоста, задніх кінцівок та вушних раковин самців та самок щурів після ГХТ.....	98

4.3	Дослідження впливу глюкозаміну гідрохлориду на скоротливість хвостових артерій самців та самок щурів за експериментальної ГХТ.....	103
4.4	Статеві особливості впливу глюкозаміну гідрохлориду на показники гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів у щурів за умов експериментальної ГХТ.....	106
4.5	Вплив глюкозаміну гідрохлориду на продукцію вазоактивних молекул у щурів різної статі за умов ГХТ..	110
4.6	Морфологічні зміни шкіри самців та самок щурів з ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду.....	114
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....		120
ВИСНОВКИ.....		135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....		138
ДОДАТКИ.....		168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АДФ – аденозиндифосфат

АТ – агрегація тромбоцитів

АХ – ацетилхолін

АЧТЧ – активований частковий тромбопластиновий час

H₂S – гідроген сульфід;

IL-1 β – інтерлейкін 1 бета

NO – нітроген монооксид;

sVCAM-1 - адгезивна молекула судинних клітин-1

в/оч – внутрішньочеревне введення;

в/шл – внутрішньошлункове введення;

ГЗО – гостре загальне охолодження

ГХТ – гостра холодова травма

ED₅₀ – середня ефективна доза

ЕТ-1 – ендотелін-1

ІФА – імуноферментний аналіз

ПАІ-1 – інгібітор активатору плазміногену 1

ПЗТ – плазма крові, збагачена тромбоцитами

ПЧ – протромбіновий час

СОД – супероксиддисмутаза

ТЧ – тромбіновий час

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. В клінічній практиці постійно доводиться зустрічатись з статевими відмінностями, які поряд з генетичним поліморфізмом є провідними причинами в формуванні індивідуальної варіабельності у фармакологічній відповіді на лікарські засоби і можуть вести до зниження терапевтичного ефекту, виникнення побічних ефектів і токсичності [1, 2, 3]. Статеві чинники формують відповідь на дію лікарських засобів [4]. Роль статевих чинників відіграє неабияку роль у проявах небажаної дії ліків [5, 6, 7].

Важливою проблемою сьогодення є холодова травма. Вона залишається однією з найскладніших і актуальних проблем медицини невідкладної допомоги. Ушкодження організму низькими температурами зустрічаються практично у всіх частинах нашої планети [8]. За даними літератури, число госпіталізацій внаслідок холодової травми, коливається від 3 % до 30 %, інвалідизація у постраждалих складає понад 30 %, а при глибоких ураженнях від 70 до 94 % [9]. Опірність організму та наслідки впливу холоду залежать від індивідуальних факторів, таких як стать, вік, стан харчування, наявність певних захворювань, вживання лікарських засобів, теплоізоляційного одягу та рівня фізичної активності. Найбільш дискусійним та контрверсійним питанням є статевий диморфізм реакції на холод та відповідь на лікарські засоби, що застосовуються в лікуванні холодкових травм. Згідно більшості даних літератури, відмороження більшою мірою превалюють у чоловічої статі, однак, подекуди в літературі можна відмітити роботи в яких зазначається, що випадки відморожень у жінок спостерігали частіше, ніж у чоловіків [10, 11, 12].

Вищезгадане обґрунтовує доцільність поглиблених досліджень розвитку холодової травми у особин чоловічої та жіночої статі, а також необхідність встановлення механізмів, які лежать в основі цих відмінностей.

Нез'ясованими залишаються питання впливу гонадальних гормонів в проявах статевих-детермінованих уражень за холодової травми. Наразі даних з цього приводу практично немає, хоча в деяких роботах відзначається захисна дія естрогенів за умов штучного охолодження при трансплантації [13].

В лікуванні холодової травми використовують широке коло лікарських засобів. Серед них виділяють: актопротектори, психостимулятори, ноотропні засоби, гепатопротектори, вітамінні препарати, нестероїдні протизапальні засоби, антиоксиданти, детоксикуючі засоби, біогенні стимулятори, анксиолітики, альфа-адреноблокатори, рослинні комплекси [14, 15]. Згідно з експериментальними дослідженнями, найбільшу ефективність показав препарат глюкозаміну гідрохлорид. Його фригопротекторна активність доведена як в експерименті, так і в клінічних умовах, і забезпечується політропним механізмом його дії, який цілком співставляється із патогенезом загальної холодової травми та локальних відморожень [9]. Незважаючи на глибокий аналіз механізмів та особливостей його захисної дії за умов гострої холодової травми, статевий диморфізм відповіді організму на його фригопротекторну дію є маловивченим, що свідчить про доцільність наукового пошуку в цьому напрямку і дозволить доповнити фармакологічне досвід цього засобу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках планової НДР кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України: «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (№ держреєстрації 0118U001903, 2018-2022). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Наукова ідея дослідження, основні напрямки експериментів та оцінка отриманих результатів виконані у співпраці з Національним фармацевтичним університетом (договір про співробітництво від 08.02.2021 року).

Мета дослідження: експериментально обґрунтувати нові підходи до фригопротекції на основі дослідження статевих особливостей судинних і

реологічних порушень за гострої холодової травми та на тлі корекції глюкозаміну гідрохлоридом.

Для досягнення мети сформульовані такі **завдання**:

1. Провести скринінгові дослідження виживаності самців і самок мишей з різним рівнем статевих гормонів за гострої холодової травми та на тлі превентивного введення глюкозаміну гідрохлориду.
2. Дослідити статеві відмінності скоротливості хвостових артерій та мікроциркуляції різних ділянок тіла (хвоста, задніх кінцівок та вушних раковин) тварин за умов гострої холодової травми і на тлі введення глюкозаміну гідрохлориду.
3. Вивчити статевий диморфізм змін коагуляційного та тромбоцитарного гемостазу в щурів із гострою холодовою травмою та за введення глюкозаміну гідрохлориду.
4. Оцінити статеві особливості впливу глюкозаміну гідрохлориду на біохімічні та морфологічні параметри функціонального стану судин за умов гострої холодової травми.

6. Об'єкт дослідження: фармакологічна корекція гострої холодової травми в особин різної статі та насиченості організму статевими гормонами.

7. Предмет дослідження: фармакодинаміка та судинні механізми дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострого загального охолодження.

Методи дослідження: фармакологічні (моделювання гострої холодової травми, оваріектомія та орхідектомія щурів та мишей); біохімічні (визначення вмісту нітроген монооксиду, гідроген сульфід, активності супероксиддисмутази (СОД) та НАДФН-оксидази); гемостазіологічні (АДФ-індукована агрегація тромбоцитів, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), рівень інгібітору активатору плазміногену 1 (ПАІ-1); імунобіохімічні (вміст естрадіолу та тестостерону, ендотеліну-1, адгезивної молекули судинних клітин-1, інтерлейкіну ІІ-1β); електрофізіологічні (визначення коефіцієнта мікроциркуляції, скоротливості кільцевих фрагментів судин);

морфологічні; статистичні (методи дескрипційної статистики).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено детальне дослідження статевих відмінностей судинної відповіді організму на гостре загальне охолодження, оцінено роль гонадальних гормонів у реалізації цих відмінностей та вивчено стать-специфічні особливості фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду в мишей та щурів за умов гострої холодової травми.

Підтверджено, що тривалість життя самок мишей за умов експериментальної гострої холодової травми вірогідно більше, ніж у самців, та вперше показано, що кастрація самців збільшує показник виживаності, тоді як тривалість життя кастрованих самок мишей зменшується порівняно зі статевозрілими тваринами. За цих умов використання глюкозаміну гідрохлориду статистично вірогідно подовжувало тривалість життя у тварин обох статей, однак його захисна дія була більш виразною у самців.

Дістало подальшого розвитку вивчення зміни в системах гемостазу та мікроциркуляції за дії холодового чинника у особин різної статі. Експериментальна ГХТ викликає статистично вірогідне погіршення кровопостачання відкритих ділянок тіла тварин (вушних раковин, задніх кінцівок та хвоста з переважанням у самців), зростання показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також активацію спонтанної та АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів, причому виразність вказаних змін була більшою в тварин чоловічої статі. Кастрація тварин супроводжувалась змінами стать-специфічного вектора реологічних та мікроциркуляторних порушень: у самців ступінь змін на тлі холодового чинника були вірогідно меншими ніж у самок. Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду протидіяло порушенням в системах мікроциркуляції та згортанні крові, спричинених ГХТ у тварин обох статей, більшою мірою в тварин чоловічої статі.

Поглиблено знання про біохімічні порушення за ГХТ різної статі та механізми фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду. ГХТ викликає розвиток ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення,

причому їх виразність була більшою у тварин чоловічої статі. У кастрованих щурів ступінь виразності вказаних змін набував протилежної спрямованості. Глюкозаміну гідрохлорид за лікувально-профілактичного введення на тлі ГХТ виявляє антиоксидантну, ендотеліопротекторну та протизапальну активності з переважанням в особин чоловічої статі.

Розширено дані щодо стать-специфічних змін мікроструктури шкіри хвоста за ГХТ і на тлі корекції. Показано, що гостре загальне охолодження викликає низку морфологічних порушень (дистрофічні зміни в епідермісі, дермі та нервових волокнах, порушення мікрогемодинаміки ішемічного характеру, еритро- та лейкостаз, мікротромбози, периваскулярний набряк, ознаки ендотеліальної дисфункції), що були більш виразними в самців тварин порівняно з самками. Глюкозаміну гідрохлорид за профілактично-лікувального застосування зменшував прояви патологічних змін морфоструктури шкіри у тварин обох статей, більшою мірою в самців.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження розширюють уявлення про фармакодинаміку глюкозаміну гідрохлориду в особин чоловічої та жіночої статі та доповнюють фармакологічне досвід цього препарату. Детальне дослідження ролі гонадальних гормонів у формуванні статевих відмінностей та реалізацію фригопротекції дає змогу прогнозувати ефективність фармакотерапії ГХТ зазначеним лікарським засобом у осіб різної статі. Отримані дані дають теоретичні підстави для розробки рекомендації щодо персоніфікованого лікування холодкових травм в клінічних умовах. Результати дослідження впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету, кафедри технологій медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та в

науковий процес лабораторнії молекулярної фармакології та медицини Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Особистий внесок здобувача. Дисертантка самостійно провела патентний пошук, аналіз наукової літератури за темою дослідження, разом із науковими керівниками визначила мету, завдання роботи та запланувала тему дослідження. Самостійно засвоїла всі необхідних фармакологічні, експериментальні методи моделювання гострого загального охолодження, оцінку фригопротекторної активності та інших методик, використаних в роботі. За безпосередньої участі авторки були проведені біохімічні, електрофізіологічні та гістологічні дослідження, дисертантка провела статистичну обробку цифрових даних, підготувала розділи роботи. Аналіз та узагальнення отриманих результатів та висновки з дисертації підготовлені дисертанткою у співпраці з науковими керівниками. Авторка не запозичувала ідей та/або результатів роботи інших співавторів у сумісних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на: XIX науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2021» (м. Вінниця, 15-17 квітня 2021 р.); XI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину» (м. Вінниця, 12-13 листопада 2021 р.), 82 Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022» (м. Запоріжжя, 17 травня 2022 р.); XII Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Клінічна фармакологія сьогодення: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності» (м. Вінниця, 9-10 листопада 2023 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць. Серед них 5 статей опубліковано в наукових фахових журналах (1 входить до міжнародної наукометричної бази Web of Science), 4 статті в фахових наукових періодичних виданнях України у галузі медичних наук,

зареєстрованих у ДАК МОН України, 4 тез доповідей на наукових форумах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 175 сторінках друкованого тексту (основна текстова частина – 137 сторінок) і включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 2 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки, список використаних літературних джерел, що містить 237 найменування (56 кирилицею, 181 латиницею), додатки. Робота ілюстрована 32 рисунками та 18 таблицями.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ СТАТЕВИХ ЧИННИКІВ В РОЗВИТКУ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ ТА
ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ФРИГОПРОТЕКТОРНОЇ ФАРМАКОТЕРАПІЇ

(огляд літератури)

1.1 Статеві відмінності в поширеності та лікуванні патологічних станів та холодової травми

Останнім часом в повсякденній діагностиці та лікуванні пацієнтів все більше уваги приділяється вивченню особливостей перебігу патологічних процесів у жіночому та чоловічому організмі [16, 17, 18]. Гендерна медицина як науковий напрямок була заснована в середині 1980-х років американським кардіологом Маріанною Легато, яка також ввела цей термін [19]. Основна мета гендерної медицини – це забезпечення соціальної основи для покращення здоров'я жінок і чоловіків, більш суворе дотримання норм та кращий терапевтичний успіх завдяки гендерчутливій діагностиці і терапії. Гендерний аспект має значну роль і при розгляді профілактики, розповсюдженості та особливостей перебігу різних патологічних станів [17, 20]. Гендерні особливості зумовлені біологічними (анатомія, гормони) та психосоціальними особливостями (спосіб життя, культура, середовище) чоловіків і жінок. Сьогодні здобутки гендерної медицини особливо значимі в лікуванні серцево-судинних, легеневих та аутоімунних захворювань, ревматології та ендокринології, при неврологічних і гастроентерологічних захворюваннях [21, 22, 23, 24, 25, 26]. Так, в більшій мірі, «жіночими» вважаються захворювання щитовидної залози, холецистит, жовчнокам'яна хвороба, схильність до закріпів, гіпертонія, інсульт, цистит, остеохондроз, остеопороз тощо [27]. Переважно «чоловічими» вважають виразкову хворобу шлунка, гепатит, панкреатит, подагру, інфаркт міокарда. Всі ці захворювання зустрічаються у пацієнтів обох статей, але відсоток захворюваності все таки буде мати гендерну тенденцію [27, 28].

Довгий час вважали, що інфаркт міокарда це «типово чоловіче захворювання», і серцеві напади у жінок часто залишаються невиявленими або виявляються надто пізно просто тому, що лікарі все ще не очікують їх у жінок. Ішемічна хвороба серця (ІХС) у жінок проявляється в середньому на 10 років пізніше, ніж у чоловіків, частіше маніфестує у вигляді стенокардії і представлена атиповою симптоматикою (безбольова, гастралгічна, проявляється задишкою, нудотою та блюванням, запамороченням та непритомністю) [29, 30, 31, 32, 33]. Відповідно до різних досліджень, незалежно від площі поверхні тіла та маси лівого шлуночка, у порівнянні з чоловіками, у жінок відзначається менший діаметр просвіту коронарних судин. Механізм подібного за грудинного болю пов'язують з вторинною дисфункцією мікросудин (синдром Х) і зараховують до «жіночої моделі» ІХС [34, 35].

Суттєві гендерні відмінності характерні для артеріальної гіпертензії: поширеність якої близько 52 % у чоловіків і 43 % серед жінок [36]. Також доведено, що захворювання швидше розвивається у жінок та швидше виникають ускладнення, такі як гіпертрофія лівого шлуночка та серцева недостатність із збереженою фракцією викиду, хронічна хвороба нирок та інш. [37].

Епідеміологія та перебіг хронічної серцевої недостатності також відрізняється у жінок і чоловіків – частота виникнення у останніх значно більша. Проте серед пацієнтів з серцевою недостатністю зі збереженою фракцією викиду більшість пацієнтів становлять жінки, особливо, якщо у них на тлі ожиріння, гіпертонії та цукрового діабету [38].

Виразкова хвороба шлунка та, особливо, дванадцятипалої кишки частіше зустрічається у чоловіків. Хоча останнім часом зростає захворюваність і у жінок, що пов'язують зі збільшенням кількості стресових факторів в Україні [39]. Гендерну залежність має і розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки. Частіше виникає у чоловіків у молодому віці (30-50 років), при цьому спостерігається значний об'єм вісцерального жиру та

високий рівень АЛТ. У жінок частота захворювання збільшується після настання менопаузи, цікаво, що рівень АЛТ залишається у межах норми.

Цікавими є дослідження гендерних відмінностей в психіатрії (депресії, фобії, панічні атаки, афективні розлади, аддиктивні залежності, шизофренія). Вважають, що чоловіки починають хворіти раніше, мають гірші когнітивні показники, серед них вища розповсюдженість негативної симптоматики, в той час, як афективні розлади частіше зустрічаються серед жінок [40, 41]. Деякі автори описують відмінності в ефективності традиційних антипсихотиків в залежності від статі, а також кращу комплаєнтність під час психофармакотерапії у жінок [42]. Хворі жінки, як і хворі чоловіки схильні до депресії та соціальної замкнутості, проте жінки більш стійкі до стресів і краще можуть використовувати свій інтелект для адаптації [25, 43], чоловіки ж менш стійкі до стресів, менш психологічно витривалі [42, 44].

З іншого боку є дані про те, що жінки, які пережили чи стали свідками стресових подій мають вдвічі вищий ризик розвитку посттравматичного стресового розладу [45]. До факторів, що обумовлюють вищезазначені відмінності, можна віднести більш виражену активацію стовбура мозку до загрозливих подразників [46]. Даний патологічний стан також пов'язаний з порушеннями гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової (ГГН) стресової осі – вона є гіпоактивною в осіб, які мають цей діагноз [47]. У жінок, в порівнянні з чоловіками, ГГН є більш сенсibiliзованою [48]. Варто зауважити, що жінки мають більшу норадренергічну реакцію на аверсивні подразники, а також спостерігається більша реактивність мигдалини у відповідь на дію стрес-фактору [49]. В ході дослідження було виявлено наступні гендерспецифічні відмінності, характерні для чоловіків: спостерігався підвищений рівень почуття провини та фізичної агресії, більшою була частота й кількість вживання алкоголю, що демонструє домінування психологічного механізму захисту «реагування через поведінку» [50]. Відмінними характеристиками жінок були: підвищений рівень образи, індексу ворожості, тривоги, депресії та вираженості стресу, підвищення індексу маси тіла, нижчий рівень емоційного

благополуччя та енергії, фізичної агресії, вживання алкоголю у порівнянні з чоловіками [50, 51]. Фаза менструального циклу, в якій знаходиться жінка під час травматичної події, статеві гормони, зокрема стероїдні гормони яєчників, мають велике значення в опрацюванні травматичних спогадів. Одне з досліджень показало, що у жінок, швидше за все, виникнуть флешбеки, якщо вони були в лютеїновій фазі під час травми [52]. Підвищене вивільнення глюкокортикоїдів, пов'язане з лютеїною фазою менструального циклу, може сприяти закріпленню пам'яті про травматичну подію [53].

Велика роль в наявності статевого диморфізму у виникненні та перебігу патологічних процесів відводиться біологічним ефектам статевих гормонів. Адже відомо, що окрім основного впливу на розвиток і функціонування організму за відповідною статтю, ці гормони мають достатньо вагомий вплив на різні органи і системи – так званий екстрагональний вплив статевих гормонів. Відомо, що ефекти статевих гормонів реалізуються через геномні та негеномні механізми [54, 55, 56, 57]. Традиційні геномні механізми пов'язують з проникненням гормону через клітинну мембрану і взаємодію його з відповідними ядерними рецепторами (андрогенові рецептори (AR), естрогенові (ER)) з подальшою активацією фактора транскрипції [58, 59, 60, 61, 62, 63]. Це головний молекулярний механізм, відповідальний за активність статевих гормонів. Рецептори представляють собою макромолекулярні білки, які знаходяться не лише в клітинах органів мішеней, а і в багатьох інших органах. Стимуляція їх призводить до розвитку ефектів, не пов'язаних з статевою системою. Нестатеві ефекти також реалізуються через негеномний вплив гормонів на організм людини, який прийнято розглядати з двох позицій [53, 57, 64, 65]:

1. Специфічні – ефекти, які реалізуються через гормональні рецептори, які транслокуються в плазматичну мембрану.
2. Неспецифічні – здатність статевих гормонів реалізовувати свої ефекти іншими шляхами:

- зв'язування з іншими білками та активація різноманітних каскадів передачі сигналу,
- активація внутрішньоклітинних сигнальних молекул,
- зв'язування з ліпідами плазматичної мембрани, що призводить до зміни функції АТФ-ази натрію/калію та АТФ-ази кальцію, модифікації іонних каналів і транспортерів та зміни гнучкості мембрани,
- зміна концентрації внутрішньоклітинного кальцію та інш.

Основні характеристики статевих гормонів та їх ефектів представлено в таблиці 1.1 [63, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76]

Таблиця 1.1

Основні характеристики статевих гормонів

Андрогени	Естрогени
<ul style="list-style-type: none"> - Тестостерон – основний гормон; - 5α-дигідротестостерон (ДГТ) – метаболіт, який утворюється з тестостерону за допомогою ферменту 5α-редуктази. 	<ul style="list-style-type: none"> - естрадіол (основний гормон до менопаузи); - естрон – субстрат для синтезу естрадіолу (до менопаузи синтезується в яєчниках, наднирниках і печінці, після менопаузи стає основним гормоном і синтезується у білій жировій тканині); - естріол – найменш активний, синтезується з естрону в крові, яєчниках, плаценті.
<i>Місце експресії рецепторів</i>	
<ul style="list-style-type: none"> - чоловічі репродуктивні органи - найвища концентрація; 	<ul style="list-style-type: none"> - жіночі репродуктивні органи (матка, молочні залози, піхва, м'язи та судини тазового дна, зв'язковий апарат малого таза)

<ul style="list-style-type: none"> - інші органи і тканини: кардіоміоцити, ендотеліальні клітини, гладком'язові клітини судин, фібробласти, макрофаги, тромбоцити, Т-лімфоцити, клітини нервової системи, остеобласти та інш. 	<ul style="list-style-type: none"> - інші органи і тканини: серце і судини, мозок, кісткова тканина, шкіра, слизова оболонка рота, гортані, очей та інш.
<p><i>Статеві функції – це регуляція:</i></p>	
<ul style="list-style-type: none"> - розвитку і формування організму за чоловічим типом; - статевої поведінку, підтримує лібідо та сприяє статевому потягу; - у жінок приймає участь в регуляції менструального циклу - тестостерон є основою для синтезу естрогенів, які забезпечують дозрівання фолікулів і підготовки ендометрія до імплантації ембріона. 	<ul style="list-style-type: none"> - розвитку і формування організму за жіночим типом; - формування жіночих статевих органів; - статевої поведінку; - менструального циклу; - фізіологічного перебіг вагітності та розвитку плоду
<p><i>Екстрагонадний вплив</i></p>	
<p>1. Генералізована анаболічна дія, яка лежить в основі впливу на всі види обміну речовин:</p> <ul style="list-style-type: none"> - на мінеральний обмін – утримують кальцій в кістках, прискорюють ріст трубчатих кісток вдовжину; підтримують в нормі щільність кісток; - на формування м'язової маси, регулюють силу та об'єм м'язів; - на енергетичний обмін – індукція синтезу білків, в т.ч. ферментів, сприяє активації циклу Кребса, що збільшує аеробний 	<p>1. Метаботропна дія – участь в регуляції всіх видів обміну речовин, основна - анаболічна: збільшення в м'язовій тканині глікогену, глюкози, креатиніну, міді та заліза; зменшення вмісту зниження вмісту ліпопротеїдів низької щільності, тригліцеридів та холестерину як в крові, так і в печінці (антиатеросклеротична дія).</p> <p>2. Участь в регуляції водно-сольового обміну – затримка</p>

<p>розпад вуглеводів та ліполіз, збільшуючи виділення енергії.</p> <p>2. Активують синтез фосфоліпідів в плазматичних мембранах. З іншого боку надмірний рівень тестостерону сприяє відкладенню жиру на талії. Можуть знижують ЛПНЩ, загальний холестерин і ТГ та підвищує ЛПВЩ в крові, пригнічують утворення жирових смуг – антиатеросклеротична дія, проте виражена в меншій мірі, ніж у естрогенів</p> <p>З іншого боку, сприяють відкладенню кальцію в судинах, що може мати про атеросклеротичну дію. Також зменшуючи ліпогенез сприяють збільшенню вмісту холестерину в печінці, внаслідок чого виникає неалкогольна жирова хвороба печінки, яка супроводжується накопиченням не лише тригліцеридів, але й холестерину.</p> <p>3. Вплив на серцево-судинну систему.</p> <p>З одного боку є інформація, що тестостерон може викликати вазодилатацію через збільшення продукції H_2S, з іншого через збільшення внутрішньоклітинного кальцію може викликати вазоконстрикцію;</p> <p>- в ендотелії судин підвищують рівень фактора росту ендотелію судин і</p>	<p>натрію, азоту і води в організмі, затримка в кістках кальцію і фосфору.</p> <p>3. Регулювання функції серцево-судинної системи через вплив на сигнальні молекули. Естрогени посилюють утворення вазодилататорів, зокрема простагліцинів та H_2S, та гальмують продукцію констрикторних молекул - ендотеліну-1, лейкотрієнів, катехоламінів.</p> <p>4. Вплив на ЦНС – нейропротекторна і когнітивна дія, покращення настрою, стійкості до стресу та ін. Реалізується через потенціювання дії збудливих нейромедіаторів, інгібування MAO в мозку, модулювання нейротрансмітерних систем (адренергічної, дофамінергічної), збільшення у нейронах вмісту оксиду азоту.</p> <p>5. Регулювання діяльності ендокринних залоз (наднирники, щитоподібна, епіфіз).</p>
---	--

збільшує проліферацію, міграцію і адгезію ендотеліальних клітин-попередників; низький рівень тестостерону призводить до ендотеліальної дисфункції,

- регулюють експресію рецепторів ангіотензину II типу 2 (AT2R) та зменшують ангіотензин-II-індукований синтез колагену в судинах і серці (зменшення фіброзу)
- контролюють шляху оксид азоту (NO)–цГМФ, знижують активність нейрональної синтази оксиду азоту (nNOS);

4. Впливають на ЦНС та психо-емоційну сферу: підвищують стресостійкість, формують психотип «лідера», але при надмірному рівні може викликати дратівливість та агресію; покращують когнітивні функції, когнітивну функцію. Андроґени, можуть мати як нейропротекторний, так і нейронебезпечний ефект (супрафізіологічні рівні тестостерону посилюють нейрональний апоптоз)

5. Через модуляцію рівня внутрішньоклітинного кальцію та здатність до генерації активних форм кисню андроґени мають вплив на різноманітні процеси в клітинах:

<p>клітинну проліферацію, апоптоз, некроз, регулюють процеси старіння</p> <p>6. Стимулюють утворення еритроцитів через стимулюючий вплив на червоний кістковий мозок.</p> <p>7. Приймають участь в регуляції міграції лейкоцитів.</p>	
---	--

На сьогоднішній день бракує досліджень з питань гендерних відмінностей при призначенні лікарських засобів. Більшість трайлів проводяться виключно за участю чоловіків, хоча вже досить давно відомо, що багато препаратів діють по-різному на чоловіків і жінок. Зазначена диспропорція пояснює так званий нетиповий перебіг захворювань у жінок, а точніше сказати, відмінний від картини, яка є характерною для осіб чоловічої статі [17, 18, 19, 77, 78]. Чоловічий та жіночий організми не ідентично реагують на лікування, перш за все з фармакологічної причини, тому що ліки вимагають різного балансу нутрієнтів: білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, макро- і мікроелементів. Жіночий організм більш стійкий до будь-яких несприятливих факторів середовища: перегрівання, переохолодження, голодування, інфекцій, стресів, болю і т.п. в порівнянні з чоловічим [77]. Є відмінності також і в дії лікарських речовин в залежності від статі [79]. Так, жінки більш чутливі до дії агоністів опіоїдних рецепторів, таких як морфін і пентазоцин [23], а чоловіки – нестероїдних протизапальних засобів, наприклад, ібупрофену [19]. Статеві відмінності продемонстровані також щодо ліків, які впливають на систему згортання крові. Чоловіки більш чутливі до антитромбоцитарних дії аспірину при профілактиці інсульту [30]. При призначенні тромболітичних засобів у жінок частіше розвиваються небажані побічні ефекти [80]. Загалом можна вважати, що жінки більш чутливі до ліків, ніж чоловіки.

Таким чином, можна сказати, що гендерна медицина є новим напрямком, що спеціалізується на біологічних та фізіологічних відмінностях, які існують між чоловіками та жінками та виявляються у різних перебігах захворювань, реакції систем організму на різні види лікування. Врахування всіх особливостей, притаманних як, жінкам, так і чоловікам суттєво оптимізує профілактику і лікування багатьох серйозних захворювань

В останні роки вчені все частіше наголошують на необхідності враховувати статеві відмінності при призначенні тих чи інших лікарських засобів, беручи до уваги особливості процесів метаболізму ксенобіотиків. Сімейство цитохрому P450 (CYP450) – одні з відоміших ензимів, що беруть участь процесах метаболізму ксенобіотиків [81, 82]. Їх активність може призводити як до підвищення фармакологічної активності лікарського засобу, так і до зниження [83, 84]. Більше всього пул цитохрому P450 представлений в мітохондріях гепатоцитів, гладенькому ендоплазматичному ретикулумі, епітелії тонкого кишечника та в проксимальних каналцях нирок. Ці шляхи є основними в процесах всмоктування, розподілу, метаболізму та виведення лікарського засобу [85]. Рядом дослідників доведено, що [86, 87, 88] активність CYP2D6 та CYP1A2 вище серед чоловіків, ніж жінок, а активність CYP3A4 у жінок вища, ніж у чоловіків. Активність ензимів першої фази переважає у чоловіків, а от ензими другої фази більш ефективні в жінок [89]. Частота розвитку побічних реакції в 1,5-2 рази вища у жінок порівняно з чоловіками. Ця різниця може бути зумовлена впливом статевих гормонів, маси тіла, складу жирних речовин, менструальним циклом тощо [90].

Декілька прикладів залежності формування гепатотоксичності лікарських препаратів залежно від гендерної ознаки. Найвищий фактор ризику формування ідіосинкратичної гепатотоксичності у жінок від 16 до 57 років властивий антибіотику міноцикліну [90, 91]. Клінічно це проявляється розвитком автоімунного гепатиту, стеатозу, набряками, жовтяницею, лихоманкою, болем у животі, анорексією, свербіжем. Потужним фактором ризику формування ідіосинкратичної гепатотоксичності є призначення

тамоксіфену, препарату, який є антагоністом естрогену і який застосовують для лікування раку молочної залози у жінок від 50 до 70 років. Сприятливими факторами ризику також є зайва вага, гіперліпідемія, гіпертонія, діабет, остеопороз [89, 92].

На сьогодні ураження печінки лікарськими засобами займають друге місце, поступаючись гепатитам, що викликані етиловим або метиловим спиртами та сурогатами алкоголю [93, 94]. Препаратами з потужною гепатотоксичністю є протитуберкульозний препарат ізоніазид, антибіотики флуклоксацілін, амоксицилін, нестероїдні протизапальні засоби та цитостатичні препарати (метотрексат, флоксурідин) [95]. Доведено, що частота гепатотоксичності збільшується в рази при одночасному використанні згаданих засобів і може сягати 80% при застосуванні п'яти-шести препаратів разом [96]. Не остання роль належить і супутнім захворюванням, таким як ревматоїдний артрит, цукровий діабет, хронічна серцева або ниркова недостатності. Хронічні захворювання потребують постійного застосування лікарських засобів, часто це можуть бути НПЗЗ, які здатні провокувати розвиток виразкової хвороби, що вимагає призначення антибактеріальних засобів. Схеми лікування, які прийняті на сьогодні, орієнтовані на ключові патогенетичні механізми і не враховують індивідуальні адаптаційні та трофологічні особливості пацієнтів. Кошурба запропонував використання в якості гепатопротекторного засобу кріоекстракт плаценти, властивості якої в забезпеченні процесів трофіки, білкового синтезу, гормонovidілення та гормонорегуляції, регуляції процесів перекисного окиснення ліпідів давно відомі [97, 98]. Крім того доведено присутність у складі досліджуваного кріоекстракту низки біологічно активних речовин, зокрема жіночих статевих гормонів. Встановлено, що введення кріоекстракту плаценти чинить гепатопротекторну дію при хронічному CCl₄-індукованому гепатиті з фоновим етанол-індукованим цирозом у щурів-самиць. Крім того введення досліджуваного кріоекстракту чинить гепатозахисну дію не тільки у тварин з незміненим гормональним статусом, але й у щурів-самиць після гонадектомії,

що може бути пов'язано з модулюючим впливом кріоекстракту плаценти на вміст жіночих статевих гормонів [96].

Вченими була доведена роль статевих відмінностей в формуванні гастротоксичності та нефротоксичності деяких нестероїдних протизапальних засобів [99, 100, 101]. В дослідженнях цих авторів було встановлено, що лікарські засоби, яким притаманний статевий диморфізм фармакодинаміки, як то диклофенак натрію, німесулід та целекоксиб, виявляють також статистично вірогідні відмінності у здатності пошкоджувати слизову оболонку ШКТ. При цьому гастротоксичність у самців щурів переважала таку у самок. Препарати, які не мали відмінностей у фармакологічному ефекті між самцями та самками (мелоксикам та еторикоксиб), не показали і відмінності у гастротоксичності. Гонадектомія у самців щурів приводила до зменшення гастротоксичності як за кількістю, так і за важкістю. Диклофенак викликав найбільшу множинність ураження. Кастрація самок призводила до збільшення вогнищ ураження шлунку під дією всіх препаратів, проте важкість ураження підвищувалась лише під впливом німесуліду та целекоксибу. Однією з причин переважання гастротоксичності диклофенаку, німесуліду та целекоксибу у тварин чоловічої статі автори вважають статево-специфічну експресію ферментів цитохрому P450 2C, які є головними метаболізаторами цих препаратів і викликають утворення низки метаболітів, серед яких є як фармакологічно неактивні, так і реакційноздатні метаболіти, що мають цитотоксичні властивості. На інтенсивність метаболізму НПЗЗ впливає ще й різна швидкість елімінації незміненої форми диклофенаку та німесуліду, більш активно препарати елімінуються з крові самців, про що свідчить коротший період напіввиведення та більший кліренс цих препаратів у самців щурів порівняно з самками [102]. Це призводить до накопичення токсичних метаболітів, які і обумовлюють статеві відмінності. Метаболізм еторикоксибу і мелоксикаму каталізується в значній мірі ферментами підродини цитохрому P450 3A, для яких в меншій мірі притаманний статевий диморфізм експресії. Безпосереднім впливом естрогенів на слизову оболонку шлунку і їх антиоксидантною дією

можна пояснити їх гастропротекторну дію при призначенні НПЗЗ. Шлунок самців виявляється більш вразливим до пошкоджуючої дії НПЗЗ, так як тестостерон, навпаки, проявляє прооксидантні властивості. Гонадектомія призводить до інверсії статево-специфічних відмінностей в ульцерогенній дії: захисна активність естрогенів прооксидантна здатність тестостерону зменшуються, що веде до зростання гастротоксичності диклофенаку, німесулідю і целекоксибу у кастрованих самок і до зменшення такої у кастрованих самців [102]. Також доведена наявність гендерної залежності у формуванні нефротоксичності у піддослідних тварин, яка пов'язана з порушенням клубочкового та канальцевого апарату нирок. Так в умовах експерименту показано, що прояви нефротоксичності переважають у тварин чоловічої статі, естрогени підвищують, а тестостерон – навпаки, знижує здатність організмів самців і самок «опиратись» пошкоджуючій дії НПЗЗ та інших токсикантів [103].

Таким чином, встановлення ролі статевих факторів у фармакодинаміці лікарських засобів і з'ясування їх дії на біохімічному і клінічному рівнях сприятиме вдосконаленню принципів цілеспрямованої регуляції фармакологічної активності препаратів, а також прогнозуванню ефективності фармакотерапії у пацієнтів різної статі.

1.2 Сучасні погляди на патогенез холодової травми та підходи до її лікування

Холодова травма є однією з серйозних проблем хірургії та травматології [104, 105], оскільки її частка в загальній кількості хірургічних втручань складає близько 10 %, а під час військових конфліктів цей показник збільшується до 25 % [106, 107, 108]. При цьому ураження низькими температурами можливо в будь-яких кліматичних зонах.

Природа холодової травми поліетіологічна, що ускладнює надання повноцінної лікарської допомоги [105, 109]. Відомо, що температурні

параметри зовнішнього середовища, які здатні викликати обмороження, є основним, проте не єдиним фактором, що визначає вираженість та прогноз холодової травми [108, 110, 111]. Так суттєве значення на перебіг патологічного процесу мають підвищена вологість повітря, сильний вітер, незручне тісне взуття, одяга, що не відповідає температурним вимогам. Не менш важливе значення мають вік, стать, загальний стан організму, наявність супутньої патології у постраждалого тощо [106, 112]. У відповідь на дію патогенних факторів виникає місцеве пошкодження тканин (найчастіше зустрічається в ділянці кистей та стоп, рідше проксимальних ділянок кінцівок, обличчя, голови, тулуба та промежини [113, 114, 115] та формується комплексна реакція організму у вигляді загального переохолодження [116, 117].

В залежності від обставини отримання травми виділяють наступні форми місцевого ураження холодом [109, 118]:

1. При дії холодного повітря.
2. При тривалому періодичному охолодженні у вологому середовищі («траншейна стопа»). При такому виді охолодження дія низьких температур змінюється тимчасовим зігріванням, а потім знову має місце охолодження. Наслідком цього є формування вологого некрозу, як правило, обох стоп [119, 120, 121]. Така форма може зустрічатись при відпочинку біля багаття під час зимової риболовлі, туристичному поході або у бійців під час військових дій.
3. При зануренні в холодну воду (імерсійна холодова травма) [113, 122, 123]. Зустрічається у потерпілих від аварії на кораблях у відкритому морі під впливом холодної води, вітру та низької температури.
4. При контакті з охолодженими до низької температури предметами (-40 °C). Це відмороження, які виникають внаслідок контакту відкритих ділянок тіла з предметами з високою теплопровідністю [104, 124]. Прихований період при такому ураженні відсутній, глибина пошкодження може бути різною, але обмежена за площею. Такий вид холодової травми,

як правило, провокує миттєвий некроз тканин, що відповідає відмороженню 3-4 ступеня [114, 125].

5. Висотні обмороження виникають в горах на тлі низького парціального тиску кисню. Для їх розвитку необхідно менше часу та менш низька температура [126, 127, 128].

В клінічному перебігу холодової травми розрізняють дореактивний період (до зігрівання) і реактивний період (після зігрівання) [107, 127, 129]. Дореактивний період характеризується незначною клінічною симптоматикою: збліднення та охолодження шкіри, втрата чутливості або парестезії у вигляді поколювання, печіння [124, 130]. Виявити в цей період глибину ураження тканин дуже складно. Після зігрівання клінічна картина стає більш вираженою: розвивається набряк шкіри, потім з'являються пухирі, при глибоких відмороженнях виникає некроз тканин. Відновлення чутливості після зігрівання є ознакою поверхневого ушкодження. Для глибоких відморожень більш характерне посилення болю та відсутність чутливості після зігрівання [110, 124]. При глибоких відмороженнях реактивний період може бути розділений на ранній і пізній, що характеризується розвитком некротичних процесів [131, 132, 133].

На сьогоднішній день не існує єдиної теорії патогенезу холодової травми, яка б повною мірою віддзеркалювала всі процеси, що відбуваються в тканинах при гіпотермії [124, 134]. Наприклад, *теорія безпосередньої дії низьких температур* розглядає в якості основного патогенетичного фактору саме дію низької температури, а судинному компоненту в ній належить другорядна роль. За цією теорією пошкодження клітин виникає внаслідок утворення внутрішньоклітинних кристалів льоду при замерзанні тканин [115, 135]. При цьому кристали спочатку утворюються позаклітинно, не руйнують клітин, проте тиснуть на клітинну мембрану та приклеюються до неї. Поза- та внутрішньоклітинна кристалізація завершується при температурі тканин від -30 до -45 °С. Крім цього порушення в клітинах виникають внаслідок порушення обмінних процесів, що призводить до розвитку осмотичного шоку

та зниженню активності ферментів [136, 137]. Осмотичний шок призводить до осадження ліпопротеїнів та порушення колоїдної структури білка, розчинення мукопротеїнів та денатурації білків, підвищення проникності мембран для іонів натрію з подальшим зростанням їх концентрації всередині клітини. Зниження активності ферментів призводить до гальмування обміну речовин, зменшується утилізація кисню тканинами, що призводить до підвищення рівня кисню та зниженню рівня CO_2 у венозній крові ураженої ділянки [127, 138]. Гіпотермія знижує утилізацію глюкози тканинами, підвищується рівень цукру у венозній крові, що відтікає від ураженої ділянки. В реактивний період рівень цукру навпаки значно знижується. Клінічно доведено, що така трактовка тканинних змін більш характерна для випадків зледеніння [124, 131].

Згідно *теорії місцевого порушення кровообігу в тканинах*, ключова роль відводиться рефлекторним судинним реакціям в зоні ураження. При загальному охолодженні організму переважають загальні судинні реакції, а при місцевому охолодженні – в ділянці ураження [111, 128]. 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, при цьому в термінальному руслі формується стійкий парез, що призводить в подальшому до розвитку набряку [139]. Тривалий спазм судин супроводжується пошкодженням ендотелію з наступним розвитком тромбозу [140]. Після зігрівання тканин спостерігається масове утворення тромбів в судинах, що пов'язано з підвищеною активністю як тромбоцитарно-судинного так і коагуляційного гемостазу [108, 141]. Порушення кровообігу займає провідну роль в патогенезі холодового некрозу. Основні фатальні патологічні зміни в тканинах розвиваються при їх зігріванні в ранньому реактивному періоді, який супроводжується підвищеною потребою тканин в кисні, що ускладнюється

відсутністю адекватного кровопостачання в ураженій ділянці і призводить до розвитку тяжкої гіпоксії та некробіотичних змін [142, 143].

Відповідно до *теорії нервово-рефлекторних змін*, підвищення рівня катехоламінів внаслідок збудження симпатичної нервової системи у відповідь на дію холоду розглядають як основний механізм, що призводить до спазму судин і порушенню циркуляції крові в органі [111, 144]. Вагосимпатичний дисбаланс, який розвивається під дією низьких температур може призвести до акроціанозу, ангіоспастичної дистонії та гангрени кінцівки.

Патогенетичні процеси, що відбуваються при місцевому охолодженні, деякі автори пояснюють *нейрогуморальною теорією* [138; 145], згідно якої при відмороженні відбувається включення низки чинників (тромботичні стани, розлади мікроциркуляції, больовий та запальний синдром, тощо). Внаслідок гіпоксії та безпосередньої дії холоду в тканинах накопичуються серотонін, кініни, гістамін та їх метаболіти, які зумовлюють патологічні зміни в судинному руслі [146, 147]. Важливе місце в механізмах розвитку патології при відмороженні також відводиться процесам альтерації ендотелію.

Слід зазначити, що патологічні процеси, що виникли внаслідок дії низьких температур характеризуються високим ступенем зворотності на ранніх строках, тобто належним чином організована медична допомога може попередити розвиток фатальних незворотніх розладів та ускладнень і покращити якість життя пацієнтів [109, 110, 117, 126].

Лікування холодової травми повинно бути комплексним, диференційованим, з урахуванням ступеня тяжкості, особливостей перебігу, максимально раннім, етапним і послідовним [120, 133, 148]. Успішність лікування холодкових травм напряду пов'язана з якістю і своєчасністю надання першої допомоги та наявності препаратів першої лінії лікування [130, 149; 150]. Пріоритетним в лікуванні холодової травми є використання фригопротекторів, препаратів, дія яких скерована на профілактику та лікування саме в перші години після дії низьких температур [15]. Ці засоби належать до різних фармакологічних груп і реалізують лікувальний ефект

внаслідок різних механізмів дії. Єдиної класифікації фригопротекторів на сьогодні не існує. Препарати призначаються з урахуванням основних ланок патогенезу холодової травми [106, 129, 150]. Це можуть бути НПЗП, препарати, що покращують гемореологічні властивості, кардіоваскулярні препарати, актопротектори, антиоксиданти тощо [127; 151]. Адекватна фармакотерапія холодової травми має бути спрямована на корекцію енергетичного обміну, захист клітинної мембрани від вільнорадикального окиснення, покращення системного та локального кровообігу, оптимізацію нейроендокринної регуляції, зменшення запальної реакції, поліпшення процесів регенерації та підвищення неспецифічної резистентності організму [130, 150; 152]. Експериментальними роботами доведено наявність фригопротекторної дії у актопротектору бемітилу, препаратів з ноотропними властивостями (пірацетам, кортексин), вітамінів (аскорбінова кислота та токоферол), інгібіторів фосфодіестераз, НПЗП (ацетилсаліцилова кислота, мелоксикам, мефенамова кислота) [15, 153]. Гарний вплив на перебіг холодової травми було відмічено у препаратів кверцетину – корвітину, ліпофлакону, фосфатидилхоліну – ліпіну, низки препаратів лікарських рослин (материнки, ромашки, солодки, шипшини) [126, 154]. Michelle Pratt для терапії холодової травми рекомендує використання ніфедипіну та пентоксифіліну [152]. Бондарев [9] довів наявність фригопротекторної дії у аміноцукру з політропною органопротекторною дією – глюкозаміну гідрохлориду.

Все перераховане вище наголошує на актуальності проблеми відморожень. Необізнаність в розумінні особливостей клінічного перебігу та лікуванні даної патології може призвести до розвитку незворотніх змін в тканинах, з формуванням в подальшому стійкої інвалідизації, а інколи і смерті постраждалого. Незадовільні результати лікування холодової травми багато в чому визначаються недостатньою вивченістю молекулярних механізмів патогенезу та, як наслідок, дефіцитом об'єктивних критеріїв прогнозування перебігу патологічного процесу.

1.3. Глюкозаміну гідрохлорид як перспективний фригопротекторний засіб

Дослідження останніх років переконливо довели, що глюкозаміну гідрохлорид є засобом з політропними фармакологічними властивостями, серед яких протизапальна, антиоксидантна, мембраностабілізуюча та фригопротекторна [155, 156]. Аміноцукор глюкозамін був отриманий в 1876 році вченим D. Ledderhose з хітину безхребетних шляхом гідролізу хітину та соляної кислоти [157]. Однак стереохімія цієї сполуки була проведена тільки в 1939 Уолтером Норменом Хоуорсом, англійським хіміком-органіком і біохіміком. Ці роки були стартовими для багатогранного вивчення глюкозаміну з метою дослідження його впливу на організм людини [158, 159, 160]. Вже з шістдесятих років минулого століття глюкозамін почали використовувати у Європі в лікарняних умовах. У 1971 році вченими було встановлено, що глюкозамін сприяє відновленню глікозаміногліканів, які відіграють найважливішу роль у побудові кісткової тканини та синовіальної рідини суглобів [161, 162, 163]. У середині дев'яностих, завдяки публікаціям учених з різних країн, глюкозамін набуває всесвітньої популярності як біологічно-активна домішка [164, 165, 166]. Дана сполука виробляється нашим організмом, може надходити з їжею, але в багатьох випадках цього, на жаль, недостатньо для нормального функціонування суглобів, тому як додаткове джерело глюкозаміну для профілактики та лікування використовуються препарати, в яких він міститься у необхідній кількості [167].

На сьогодні найбільш поширеними в клінічній практиці є дві солі глюкозаміну – гідрохлорид та сульфат. Фармакологічні та фармакодинамічні характеристики в них дуже близькі, різняться вони за хімічною будовою. Препарати глюкозаміну гідрохлориду містять близько 85 % чистого глюкозаміну, а сульфату – 62 % [168]. Використання обох солей може бути, як самостійним, так і в комбінованій терапії [169, 170]. Перевагою глюкозаміну гідрохлориду є те, що ця сполука є більш стабільною, в той час

як глюкозаміну сульфат потребує стабілізації хлоридом калію або хлоридом натрію, що може призвести до надлишкового надходження солі в організм людини, що, в свою чергу, суттєво обмежує призначення сульфатної форми [171, 172].

Вченими в галузі фармакології встановлено, що глюкозамін та його похідні мають широкий спектр фармакологічної активності: протизапальна, знеболююча, мембраностабілізуюча, кардіо-, нефро-, гепато-, гастро-, хондропротекторна, антиульцерогенна, антиоксидантна дії, стимулюють регенерацію тканин, мають ранозагоюючу дію, посилюють ефекти НПЗЗ. [173, 174, 175, 176].

Протизапальний ефект глюкозаміну реалізується, перш за все, за рахунок антиоксидантної активності [177, 178, 179, 180]: нейтралізації вільних радикалів та окиснювальних агентів, гальмування розвитку запальних реакцій. Механізм протизапальної дії пов'язаний із його здатністю стабілізувати лізосомні мембрани, впливати на біогенні аміни, зменшувати активність гіалуронідази. G. Murphy довів здатність глюкозаміну пригнічувати аутоімунні реакції, що дало можливість застосовувати глюкозамін в лікуванні такого захворювання як остеоартрит [181]. Глюкозамін стимулює біосинтез неколагенових білків, активує біосинтетичні процеси у хондроцитах та синовіоцитах, сприяє потраплянню білків і полісахаридів у міжклітинний простір, що дає змогу формувати матрикс суглобового хряща [182, 183]. Глюкозамін проявляє антикомплементарну активність, здатен інгібувати активність металопротеаз та інтерлейкінів [184]. Механізм антиексудативної дії глюкозаміну реалізується через вплив на гістамін і здатність стабілізувати клітинні мембрани. Глюкозамін входить до складу гліколіпідів та глікопротеїдів і бере участь у транспорті речовин крізь цитоплазматичні мембрани, що забезпечує збереження цілісності структури мембран [185]. Одним із механізмів хондропротекторної дії глюкозаміну є його здатність стимулювати біосинтез вільних та тканинних глюкозаміногліканів [186].

Доведеними є кардіопротекторна та цитопластична дії глюкозаміну. Ці властивості реалізуються завдяки протизапальній, мембраностабілізуючій, антиоксидантній, анаболічній активності, а також нормалізації обмінно-трофічних процесів [156]. Крім того при дистрофічних процесах в міокарді описаний його позитивний вплив на синтез простагландину E2. Зменшення запалення в ішемізованому серцевому м'язі реалізується за рахунок його мембраностабілізуючих властивостей у кардіоміоцитах і в рецепторному апараті клітин, що продукують фізіологічно активні речовини, структурним компонентом яких є ендогенний N-ацетилглюкозамін. Крім цього виділяють Ca^{2+} -залежний компонент механізму впливу глюкозаміну на кардіоміоцити та його кардіопротекторної дії.

Ca^{2+} -залежний механізми дії глюкозаміну також досліджували в експерименті при хронічній нирковій недостатності різної етіології. Він є компонентом глікопротеїну нефрокальцин, який запобігає утворенню та росту кристалів моногідрату оксалату кальцію. Глюкозамін підвищує клубочкову фільтрацію, сприяє збільшенню в сечі загального нітрогену, , аміаку, сечовини та молочної кислоти, що посилює детоксикаційну функцію нирок [187, 188; 189, 190]. При ушкодженнях гепатобіліарної системи у щурів глюкозамін виявляє антицитолітичну та антиоксидантну дії [189, 191], нормалізує холестероловий і вуглеводний обміни, посилює детоксикаційну й глікогенсинтетичну функції печінки, має місце відновлення нормальної ультраструктурної організації гепатоцитів [192, 193, 194]. Встановлено, що зменшення концентрації глікопротеїнів у шлунковому соку призводить до загострення виразкової хвороби шлунка. При цьому пероральне застосування екзогенного глюкозаміну викликає збільшення синтезу слизу в шлунку та зменшення подразнення його слизової оболонки хлористоводневою кислотою шлункового соку [195]. Завдяки таким властивостям рекомендовано його використання в гастроентерології.

Певна кількість глюкозаміну міститься в тканинах ока. При травмах ока в рогівці активуються процеси руйнування колагену, тому цілком зрозуміла

доцільність застосування глюкозаміну в якості стимулятора метаболізму колагену, що сприятиме прискоренню загоєння ранового дефекту та зменшенню кількості і вираженості ускладнень [196]. Позитивні результати отримані при застосуванні глюкозаміну як засобу з антиамнестичною та антигіпоксичною властивостями. Показано наявність захисної дії глюкозаміну гідрохлориду на тканини мозку на тлі гемічної гіпоксії. Доведена ефективність глюкозаміну при термінальних станах, що супроводжуються набряком мозку та легень, перитонітом, абдомінальноартеріальному шоці та гіпобаричній гіпоксії. Глюкозамін виявляє активність за рахунок антиоксидантної, мембраностабілізуючої, антитоксичної, антиішемічної та антигіпоксичної дії. Вивчення динаміки вмісту ендogenous N-ацетилглюкозаміну в тканинах та у сироватці свідчить про різноспрямований характер змін термінальних показників при набряку легень. Механізм дії глюкозаміну може бути пов'язаний з нормалізацією обміну ендogenous N-ацетилглюкозаміну [197].

Доведено, що глюкозамін зменшує гостру токсичність інших препаратів при їх одночасному введенні, збільшуючи ЛД50 в 1,5-2,0 рази, що пояснюється впливом глюкозаміну на функцію всіх життєво важливих органів і систем організму, підвищенням їх резервних можливостей та здатності нейтралізувати стресові впливи [180, 188]. Доведено, що при багатьох патологіях, як то запальні захворювання, гострі інфекції, колагенози, ураження паренхіми печінки, нирок, онкологічні захворювання відмічається зниження вмісту глюкозаміну в органах, тканинах та у сироватці крові, що є доказом його важливої ролі у функціонуванні організму. Комбіноване застосування НПЗЗ із глюкозаміном потенціює їх протизапальну дію та зменшує побічні ефекти, оскільки дозволяє знизити їх дозу в 2-2,8 разу із збереженням виразності протизапального ефекту [185].

Проаналізувавши дані джерел літератури, можна зробити висновки, що глюкозамін як ендogenous метаболіт багатьох клітин є перспективною речовиною для створення нових лікарських препаратів. На окрему увагу заслуговує його здатність захищати організм від негативної дії холоду

(фригопротекторна активність). Вона доведена як в експерименті, так і в клінічних умовах, і забезпечується комплексним механізмом його дії, який цілком співставляється із патогенезом загальної холодової травми та локальних відморожень [9].

Однак натепер відсутні дані щодо статевих відмінностей дії цього препарату в експерименті та в умовах клініки, і, зокрема, за умов холодової травми, що і стало предметом даного дисертаційного дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика дослідних тварин та умови їх утримання, акліматизації та рандомізації

Під час проведення дисертаційного дослідження було дотримано нормативів чинного законодавства: методичні рекомендації «Державного фармакологічного центру МОЗ України» [198] та ін. нормативних документів з доклінічного вивчення потенційних лікарських засобів [199, 200], вимоги біоетики згідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», затверджених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Експерименти, що викликали біль та страждання тварин, проводили під загальною або місцевою анестезією. Якщо по закінченні експерименту тварин не можливо було залишати живими, умертвіння їх проводили гуманним методом при мінімальних фізичних та психологічних стражданнях.

Комітет з біоетики Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова підтвердив відсутність біоетичних норм при проведенні експериментального дослідження (протокол №10 від 02.12.2021 та протокол №2 від 31.01.2024 р.).

Характеристика піддослідних тварин

Вид	білі миші	білі щури
Порода	нелінійні тварини	тварини лінії Wistar
Стать	самці та самки	
Маса тіла	23-25 г	260-290 г
Загальна кількість	66	290
Джерело одержання	віварій ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»	
Період акліматизації	10 діб	
Індивідуальна ідентифікація	умовна цифрова нумерація з урахуванням положення кольорової мітки	
Метод розподілу за групами	випадкова вибірка	
Кількість тварин у клітці	10 голів	5 голів
Розміри клітки	220 x 160 x 50 мм	500 x 320 x 160 мм
Матеріал клітки	пластмасовий ящик з оцинкованою сіткою	
Основний раціон	повнораціонний гранульований комбікорм, фуражне зерно, хліб, коренеплоди (буряк, морква)	
Джерело води	охоложена кип'ячена вода	
Підстилка	тирса листяних дерев	
Температура повітря	20-24°C	
Вологість повітря	50±5 %	
Освітлення	12 годин на добу	

Критерії включення, виключення та вибування тварин із дослідження.

До експерименту включали білих нелінійних мишей масою 23-25 г, та щурів лінії Wistar масою 260-290 г статевозрілого віку, різної статі, що поступили до віварію з однієї партії, з одного розпліднику, в один строк та

утримувались згідно з санітарними нормами на стандартному раціоні. До початку дослідження тварини були абсолютно здоровими та в стані, який не міг вплинути на випробування. Тварин не включали у дослідження, якщо вони не пройшли необхідний карантин та акліматизацію або використовувалися в дослідженні іншого препарату протягом строку, який необхідний для того, щоб стан тварин повернувся до норми. Вибування тварин з експерименту проводилось за обставин, які не пов'язані з застосуванням препарату, з зазначенням причини вибування, наприклад, внаслідок маніпуляційних помилок.

Експерименти проведені з урахуванням добових та сезонних ритмів. Отримання біологічних рідин на гематологічні аналізи та забій тварин були проведені в полуденні години. До забору біологічного матеріалу або забою тварин, попередньо за 10-12 годин тварин позбавляли їжі та води.

Відповідно до мети та завдань дослідження всі експериментальні тварини були поділені на такі групи: 1) самці та самки мишей без змін гормонального статусу (контроль), яким відтворювали ГХТ; 2) самці і самки тварин, яким була виконана гонадектомія (тестектомія або оваріектомія, відповідно), а через 21 день – ГХТ; 3) статевозрілі тварини обох статей, яким внутрішньошлунково (в/ш) вводили глюкозаміну гідрохлорид перед та/або після ГХТ; 4 група – кастровані тварини обох статей, яким профілактично вводили глюкозаміну гідрохлорид у вищезазначеному режимі. Самцям і самкам препарат вводили в один і той же день, в однакових дозах та режимах введення. Контрольні самки та самці замість досліджуваної речовини отримували відповідну кількість розчинника.

Для дослідження секс-специфічних відмінностей захисної дії глюкозаміну гідрохлориду за ГХТ у щурів, його вводили внутрішньошлунково у вигляді субстанції (Sigma, USA) в лікувально-профілактичному режимі: за 60 хвилин перед моделюванням ГХТ та протягом 3-х днів після неї, дозою 50 мг/кг, після розчинення в дистильованій воді. Ця доза була запозичена з літератури як така, що володіє виразною фригопротекторною активністю

[201]. Контрольні самки та самці щурів замість досліджуваної речовини отримували еквіоб'ємні кількості розчинника.

Розподіл тварин за етапами експериментів наведений в табл. 2.2.

Таблиця 2.2

Розподіл експериментальних тварин згідно етапів дослідження

№	Етапи дослідження	Щурі		Миші	
		самці	самки	самці	самки
	Скринінгові дослідження виживаності тварин різної статі та рівня статевих гормонів за умов ГХТ та дії глюкозаміну гідрохлориду			33	33
	Дослідження стать-специфічні зміни мікроциркуляції органів-мішеней за умов ГХТ та дії глюкозаміну гідрохлориду	21	21		
	Дослідження впливу статі та різної насиченості організму статевими гормонами на скоротливість хвостових артерій щурів за ГХТ та її корекції глюкозаміну гідрохлоридом	16	16		
	Статеві особливості біохімічних та гемостазіологічних показників у щурів за умов експериментальної ГХТ та її корекції глюкозаміну гідрохлоридом	80	80		
	Морфологічні дослідження	28	28		
	Всього	290		66	

2.2 Методи дослідження

Основним принципом при виборі методів була їх максимальна інформативність та відповідність поставленим задачам. Всі дослідження з виявлення ефектів препарату у тварин різної статі виконували із урахуванням хронофармакологічних чинників та синхронно з відповідним контролем.

Дослідження виконано на базі сертифікованої «Науково-дослідної лабораторії з доклінічного вивчення лікарських засобів кафедри фармакології» (свідоцтво про технічну компетентність №030/18 від 1.11.2018 р., чинне до 31.10.2023 р., №171/23 від 6.12.2023 р., чинне до 05.12.2028 р.). Автор вдячний завідувачу лабораторії доц. кафедри фармакології Тарану Іллі Васильовичу за допомогу у проведенні експериментальних досліджень.

2.2.1 Моделювання гострої холодової травми проводили відповідно до методичних рекомендацій «Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фригопротекторними властивостями» [201].

Для скринінгових досліджень наявності статевих відмінностей у захисній дії глюкозаміну гідрохлориду, відтворювали гостре загальне охолодження (ГЗО), коли самців і самок мишей розміщували у пластикових прозорих боксах розміром 10×15×20 см, що не обмежували доступ до повітря та рухливість тварин, і вміщували до морозильної камери при -18°C і проводили відеореєстрацію поведінки та виживання тварин. Реєстрували кількість загиблих мишей і час загибелі в кожній групі.

Досліджувану субстанцію у вигляді розчину вводили в/ш за 60 хв до початку холодового впливу. Контрольні тварини отримували відповідну кількість ізотонічного розчину NaCl. Для групи, які досліджувались в різні дні, був окремий контроль. Інтегральний критерій захисної дії – час виживання тварин, який визначали для мишей кожної статі (за відсутності статевих відмінностей). Фригопротекторну активність розраховували як відсоток збільшення тривалості життя відносно контрольної групи.

Для поглиблених досліджень використовували модель ГХТ на мишах на щурах, при цьому час знаходження мишей при -18°C становив 30 хв, а щурів – протягом 2 год.

2.2.2 Модуляція гормонального статусу тварин

Для виявлення стану репродуктивної функції у самок тварин досліджуваних груп з'ясовували циклічні зміни ендометрію за аналізом вагінальних мазків. В дослідженні приймали участь тварини статево-зрілого віку (3 місяці). Естральний цикл самок щурів визначали за вагінальними мазками. Тварин в експеримент брали у фазі проєструсу, коли рівень естрогенів найвищий [202, 203]. Експериментальні зміни вмісту статевих гормонів в організмі піддослідних тварин виконували за допомогою кастрації тварин (оваріектомія та тестектомія самкам і самцям відповідно) під кетаміновим наркозом (10 мг/кг) хірургічним методом через серединний розтин передньої черевної стінки згідно з загальноприйнятими методиками. Дослідження проводили через 21 день після кастрації. Контрольним тваринам виконували розтин передньої черевної стінки з наступним пошаровим зашиванням рани («хибнооперовані»).

У цій серії дослідів глюкозаміну гідрохлорид вводили в/ш статевозрілим мишам протягом 7 днів. Уміст естрадіолу та тестостерону в гепариновій плазмі крові тварин визначали імуноферментним методом зі стандартними наборами DRG Estradiol Elisa фірми DRG (USA) та DSLActive Testosterone фірми DSL (USA) відповідно до інструкцій фірм виробників.

Зміни рівня статевих гормонів в організмі після відтворення описаних моделей приведені в табл. 2.3. та 2.4.

Було встановлено, що гонадектомія щурів та мишей викликає критичні зміни рівня статевих гормонів: так, вміст тестостерону у самців статистично знижувався в 18,5 та 15,2 рази, у щурів та мишей відповідно, а вміст естрадіолу у самок падав менше, в середньому в 9 разів ($p < 0,05$) порівняно з статевозрілими тваринами без кастрації.

Таблиця 2.3

Вміст статевих гормонів в плазмі крові самців та самок щурів дослідних груп ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин		Самці	Самки
		Тестостерон, нмоль/л	Естрадіол, нмоль/л
Без ГХТ			
1	Статевозрілі (контроль)	48,8±0,65	0,435±0,032
2	Гонадектомія	2,64±0,10*	0,047±0,004*
ГХТ			
1	Статевозрілі (контроль)	47,2±0,74	0,462±0,040
2	Гонадектомія	2,45±0,12*	0,053±0,005*
3	Статевозрілі + глюкозаміну гідрохлорид	48,0±0,76	0,446±0,037

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно статевозрілих тварин.

Таблиця 2.4

Вміст статевих гормонів в плазмі крові самців та самок мишей ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	Самці (n=5)	Самки (n=5)
		Тестостерон, нмоль/л	Естрадіол, нмоль/л
1	Контроль (статевозрілі)	9,75±0,84	0,145±0,015
2	Кастрація	0,640±0,042*	0,016±0,002*

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно контрольної групи.

При цьому гостра холодова травма не впливала на вміст статевих гормонів в периферичній крові тварин, а введення глюкозаміну гідрохлориду також не викликало статистичних змін тестостерону та естрадіолу як у самців щурів, так і у самок.

2.2.3 Електрофізіологічні методи дослідження

Методика оцінки мікроциркуляції шкіри щурів in vivo

Функціональні гемодинамічні показники (коефіцієнт мікроциркуляції, у.о.) вимірювали за допомогою електрофізіологічного обладнання Віорас (США) з використанням додаткового модуля для вимірювання швидкості кровотоку LDF-100С неінвазивним шляхом за допомогою поверхневого датчика (рис. 2.1, 2.2). Визначали вихідні значення показника мікроциркуляції органів, які найбільш часто вражаються від шкідливого впливу холодового чинника: вушних раковин, тильної поверхні задніх кінцівок та проксимальної третини хвоста тварин. Визначені показники порівнювали з такими, що реєстрували через 30 хв після відтворення ГХТ.

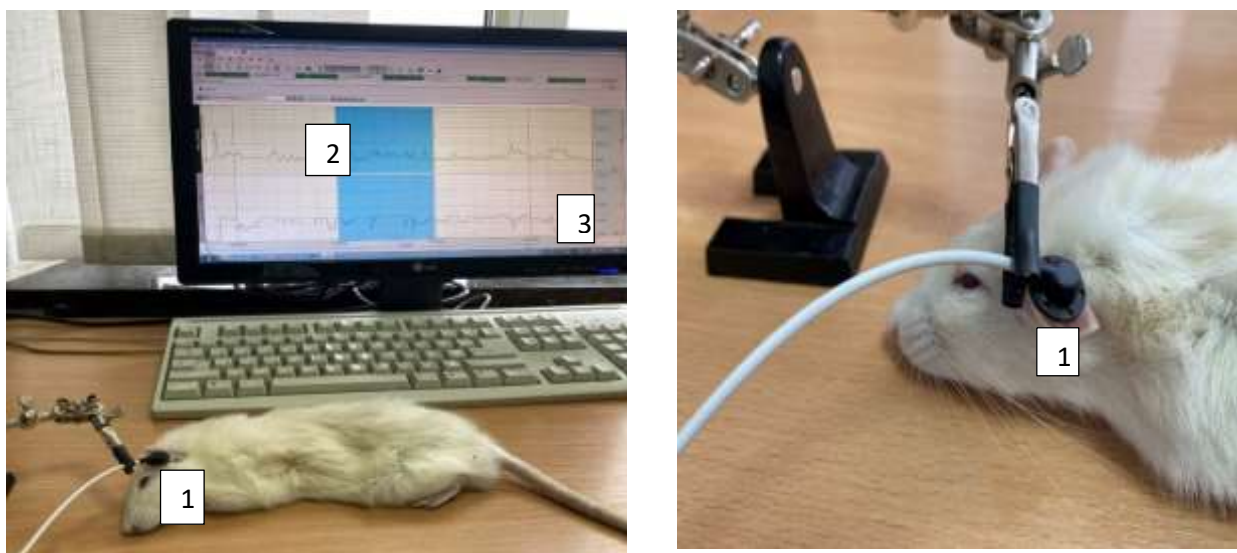


Рис. 2.1. Процес вимірювання мікроциркуляції на тильній поверхні нижньої кінцівки щура контрольної групи електрофізіологічним обладнанням Віорас (США) та вивід і візуалізація значень функціональних показників на монітор: де: 1 – неінвазивний датчик, накладений на вушну раковину щура для вимірювання гемоциркуляції 2 – значення коефіцієнту мікроциркуляції (blood perfusion units, BPU); 3 – відсотковий показник кровонаповнення органа відносно фонового рівня.



А



Б

Рис. 2.2. Неінвазивний датчик, Віорас (США), накладений на тильну поверхню нижньої кінцівки щура (А) та верхню третину хвоста (Б) для вимірювання мікроциркуляції після гострої холодової травми.

Електрофізіологічний метод реєстрації скоротливої активності хвостової артерії щурів *in vitro*

Дослідження виконані в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про переатестацію №114/21 від 03.09.2021). Реєстрація скоротливості кільцевих фрагментів хвостової артерії проводилась в модельній системі *in vitro*. Після виділення хвостової артерії щурів її одразу поміщали у стандартний буферний розчин Кребса (склад в кінцевих концентраціях, мМ: 132 натрію хлориду, 4,7 калію хлориду, 1,4 натрію дигідрофосфату, 1,0 кальцію хлориду, 12,5 натрію гідрокарбонату та 5,6 глюкози), рН 7,4, при температурі 18-20°C. Під бінокелем хвостову артерію звільняли від сполучної тканини та згустків крові, далі розрізали на кільцеві сегменти завширшки 2 мм і залишали у розчині Кребса при температурі 18-20°C на 45 хв. Потім гладком'язові препарати хвостової артерії поміщали у робочу перфузійну камеру (об'єм – 0,5 мл) між гачком і датчиком напруження та розтягували під постійним навантаженням 0,015-0,02 Н, що дозволяє отримати оптимальну силу скорочення ізольованих кільцевих сегментів.

Реєстрацію скоротливої активності ізольованих препаратів хвостової артерії проводили в режимі, що наближався до ізометричного, за допомогою тензометричної установки, створеної в ДУ «Інститут фізіології АМН України ім. О.О. Богомольця», за загальноприйнятою методикою [204].

Сегменти хвостової артерії в камері суперфузували буферним розчином Кребса з постійною температурою 37°C та зі сталою швидкістю 1,5 мл/хв за допомогою перистальтичного насосу. До початку експерименту препарати судин витримували у перфузійній камері протягом 40-60 хв. Далі починали періодичну стимуляцію гладком'язових клітин за допомогою гіперкалієвого буферного розчину із вмістом іонів K^+ 80 мМ до отримання стабільних скоротливих відповідей з метою досягнення оптимального режиму роботи гладеньких м'язів судин. Після цього м'язові смужки промивались стандартним розчином Кребса 3 рази по 30 хв.

Оцінка ацетилхолін-ініційованого розслаблення. Спершу оцінювали ізометричне напруження фрагментів аорти, передскорочених фенілефрином ($10^{-6}M$), і приймали його за 100 %. Далі ізольовані фрагменти хвостової артерії, передскорочені фенілефрином ($10^{-6}M$), перфузували розчинами, що містили одночасно фенілефрин ($10^{-6}M$) та ацетилхолін (АХ) в діапазоні концентрацій 10^{-5} - $10^{-8}M$, протягом 15 хв кожний з наступною реєстрацією змін ізометричного напруження. Рівень ацетилхолін-ініційованого розслаблення представляли у відсотках, які розраховували відносно показника ізометричного напруження фрагменту хвостової артерії досягнутого при дії фенілефрину.

2.2.4 Біохімічні та гемостазіологічні методи дослідження

Біохімічні дослідження проведені на базі сертифікованої науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (свідоцтво про переатестацію №114/21 від 03.09.2021). Автор вдячний завідувачу кафедри медичної та

біологічної хімії доктору медичних наук професору Мельнику Андрію Володимировичу за допомогу у проведенні біохімічних досліджень.

Матеріал для дослідження: цільна кров, плазма та сироватка крові. Отримання матеріалу: забір крові здійснювався за допомогою вакутейнерів в стерильні пластикові пробірки Vacuette (Greiner Bio-One, Австрія): для гематологічних і біохімічних досліджень з K_2EDTA та без антикоагулянтів, для дослідження показників гемостазу – з 3,8 % розчином цитрату натрію у співвідношенні 9:1. Сироватку та $EDTA$ -плазму отримували центрифугуванням крові при 1500 g 15 хв при 18-22°C. Для біохімічних досліджень аліквоти сироватки та плазми відбирали в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20°C. Плазму збагачену тромбоцитами (ПЗТ) отримували центрифугуванням стабілізованої цитратом крові при 300 g упродовж 5 хв при 18-22°C і відбирали аліквоти для дослідження АТ.

Вміст ендотеліну-1 (ET-1) в сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням комерційного набору «Rat ET-1 (Endothelin 1) ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) у відповідності до інструкції фірми-виробника на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Вміст NO в сироватці крові визначали колориметричним методом при довжині хвилі 550 нм з використанням комерційного набору «Nitric Oxide (NO) Colorimetric Assay Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США). Принцип методу базується на визначенні вмісту стабільних метаболітів NO – нітритів, які з хромогенним реагентом утворюють червонувату азосполуку, рівень якої прямо пропорційний вмісту NO. Вміст H_2S в сироватці визначали за реакцією утворення тіоніну з використанням *p*-фенілендіаміну [205]. Вміст адгезивної молекули судинних клітин-1 (sVCAM-1) в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором «sVCAM-1 ELISA KIT» (Diacclone, Франція) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Рівень IL-1 β визначали імуноферментними методами з використанням відповідних наборів «Rat IL-1 β ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) у

відповідності до інструкції фірми-виробників. Детекцію проводили на аналізаторі STAT-FAX 303+ (США) при довжині хвилі 450 нм (диференційний фільтр – 630 нм).

Активність супероксиддисмутази в сироватці крові оцінювали за відсотком гальмування окислення кверцетину [206], НАДФН-оксидази – за ступенем поглинання НАДФН при 340 нм [207].

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°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).

Для характеристики внутрішнього та зовнішнього шляхів зсідання крові визначали активований частковий тромбoplastиновий 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.

2.2.5 Морфологічні методи дослідження

Морфологічні дослідження виконані у Вінницькому обласному патолого-анатомічному бюро (ліцензія МОЗ України АЕ №638623 від 23.04.2015, №240). Автор вдячний лікарю-патологоанатому головного

відділення КНП «ВОПАБ ВОР» Олені Урван за допомогу у проведенні морфологічних досліджень.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом дислокації шийних хребців. В дослідження брали кільцеві фрагменти шкіри верхньої третини хвоста, розміром 2 см. Матеріал фіксувався в 10 % розчині нейтрального формаліну (рН 7,2-7,4) протягом 24-48 годин, потім проводили через спирти зростаючої концентрації та заливали у парафін. Застосований фіксуючий розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини і тканини для їх подальшої обробки та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. За допомогою санного мікротома Мікромед МС-2М готували напівтонкі зрізи (4-5 мкм), які забарвлювали гематоксиліном і еозином. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 (МОЗ України Свідоцтво про державну реєстрацію № 8120/2008, код 9011800000) із застосуванням збільшень у 100 (об.10, ок.10); 200 (об.10, ок.20); та 400 (об.10, ок.40) разів.

Візуалізацію зображення здійснювали за допомогою морфометричної програми Quickphoto micro 2.3 (ліцензійна згода № 925113924). Мікроскопічно проводили оцінку морфологічного стану та складу тканин шкіри, наявність патологічних і репаративних змін, їх характер, та характер патологічних змін у м'язовій тканині та фасціях при ГХТ.

2.2.6 Статистичні методи обробки отриманих результатів

Для формування бази даних було використано редактор електронних таблиць Microsoft Excel 2010. Обробку первинного матеріалу проводили за допомогою офісного пакета Microsoft Excel та пакету Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Результати представляли у вигляді середніх значень (M) та похибки середнього (m). Нормальність розподілу визначали за критерієм Шапіро-Уїлка (W). Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз

ANOVA та застосовували метод Н'юмена-Кейлса, в інших випадках використовували ранговий аналіз варіацій за Крускалом-Уоллісом (з поправкою Бонферноні) та порівняння вибірок за допомогою критерію Мана-Уїтні. Критичний рівень значущості приймали за 5 %. Всі використані при виконанні даної роботи одиниці вимірювання та параметри наведені у відповідності до міжнародної системи одиниць.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ СТАТІ ТА РІЗНОГО РІВНЯ НАСИЧЕНОСТІ
ОРГАНІЗМУ СТАТЕВИМИ ГОРМОНАМИ НА ЧУТЛИВОІСТЬ
ОРГАНІЗМУ ТВАРИН ДО ГОСТРОГО ЗАГАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ

Численні дані літератури переконливо свідчать про наявність варіабельності у відповіді організму на екстремальні чинники навколишнього середовища, в тому числі температурні.

Метою цієї частини дослідження було дослідити існування секс-специфічної реакції організму на витривалість в умовах гострого загального охолодження, зокрема, судинних чинників, які лежать в основі цих відмінностей, а також визначити ступінь залежності виявлених відмінностей від рівня гонадальних гормонів.

3.1. Скринінгові дослідження виживаності статевозрілих самців та самок мишей за гострої холодової травми

Першим етапом стало експериментально оцінити особливості витривалості інтактних самців та самок мишей за екстремально низьких температур. Гостра холодова травма тварин моделювали як описано в розділі 2. Спостерігали за поведінкою самців та самок тварин та фіксували час до повного залякання.

Результати дослідження показали різні поведінкові реакції тварин в умовах холодової травми. Протягом часу спостереження самки щурів були більш активними, особливо в перший період перебування в морозильній камері, швидко рухались, більш тривало зберігали свідомість і лише згодом їхня поведінка ставала малорухомою. Натомість самці мишей з початку спостереження були малорухливими, а в подальшому – мляво пересувались по пластиковому контейнері і досить швидко залякали.

Аналіз тривалості життя за ГХТ тварин представлений в табл. 3.1

Таблиця 3.1

Тривалість життя самців та самок мишей на моделі гострого загального охолодження ($M \pm m$)

Експериментальні групи	Час життя, хв	
	Самці, n=7	Самки, n=7
Статевозрілі тварини	46,17±0,95	63,76±2,97*

Примітка: * – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) між самцями і самками;

Отримані дані продемонстрували наявність виражених статевих відмінностей у чутливості організму тварин різної статі до дії екстремально низьких температур. Самки мишей виявились більш витривалими, аніж самці, оскільки середній показник тривалості життя тварин чоловічої статі за умов експериментального ГХТ становив 46,17±0,95 хвилини, тоді як аналогічний показник у тварин жіночої статі був на 38,1 % більшим ($p < 0,05$).

3.2 Вплив кастрації (оваріектомії та орхідектомії) на показники виживаності інтактних мишей за гострої холодової травми

Результати, отримані в попередніх дослідах, дають можливість думати про причетність гонадальних гормонів до статевого диморфізму витривалості в умовах ГХТ. Для перевірки цієї гіпотези в наступній частині роботи холодову травму було нанесено тваринам після хірургічної кастрації. Для цього було проведено оварієктомію та орхієктомію, як описано в розділі 2. В дослід кастрованих мишей брали через 21 добу після хірургічного втручання – час, який необхідний для критичного зниження рівнів естрадіолу та тестостерону в організмі, що описано в літературі і використовується в експериментальній фармакології [202, 208].

Згідно результатів, наведених в табл. 3.2, гонадектомія самок викликала різке зниження вмісту гонадальних гормонів: вміст естрадіолу знижувався в 9,06 рази, а рівень тестостерону знижувався в 15,2 рази ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2

Вміст статевих гормонів в плазмі крові самців та самок мишей ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	Самці (n=5)	Самки (n=5)
		Тестостерон, нмоль/л	Естрадіол, нмоль/л
1	Контроль (статевозрілі тварини)	9,75±0,84	0,145±0,015
2	Кастрація	0,640±0,042 $P_{1,2} < 0,05$	0,016±0,002 $P_{1,2} < 0,05$

Примітка. Цифри біля P означають номери груп, з якими проводилось порівняння.

Оцінка тривалості виживання кастрованих самців і самок мишей підтвердила припущення щодо участі статевих гормонів в забезпеченні стійкості організму до дії низьких температур. Так, тривалість життя кастрованих самців за експериментального ГХТ становила $58,86 \pm 2,88$ хвилини, що було на 27,5 % більше, порівняно з статевозрілими тваринами відповідної статі ($p < 0,05$). На противагу цьому, тривалість життя кастрованих самок мишей зменшувалась на 10,45 % (з $63,76 \pm 2,97$ до $57,10 \pm 2,41$ хв, $p < 0,05$) (табл. 3.3).

Тобто, кастрація самців сприяла більшій витривалості за даних умов експерименту, а кастрація самок – навпаки, погіршувала. Статеві відмінності виживаності за ГХТ у кастрованих тварин нівелювались: середні показники тривалості життя у самців і самок мишей були практично однакові.

Вплив кастрації на тривалість життя самців та самок мишей на моделі гострого загального охолодження ($M \pm m$, $n=7$)

Експериментальні групи	Самці, $n=7$		Самки, $n=7$	
	Час життя, хв	% змін до показника контролю	Час життя, хв	% змін до показника контролю
Контроль (Статевозрілі тварини)	46,17±0,95	–	63,76±2,97*	–
Кастрація (контроль)	58,86±2,88#	+27,5 %	57,10±2,41#	-10,45 %

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) між самцями і самками;
2. # – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) відносно контролю у тварин відповідної статі.

Отримані дані демонструють, що тип та рівень насиченості організму мишей статевими гормонами створюють певний метаболічний фон, на якому реалізуються гендерні відмінності у чутливості організму на екстремально низьких температур. Естрадіол захищає організм самок від обмороження, тоді як тестостерон такими властивостями не володіє.

3.3 Статеві відмінності динаміки мікроциркуляції різних ділянок тіла (хвоста, задніх кінцівок та вушних раковин) тварин за умов гострої холодової травми

В цій частині роботи було оцінено стать-специфічні зміни мікроциркуляції органів-мішеней, які потерпають від впливу екстремально низьких температур (вушна раковина, нижні кінцівки та хвіст) за експериментальної ГХТ у щурів.

Моделювання ГХТ у щурів проводили як описано в розділі 2, вимірювання функціональних гемодинамічних показників (коефіцієнт

мікроциркуляції, у.о.) проводили за допомогою електрофізіологічного обладнання Віорас (США) з використанням додаткового модуля для вимірювання швидкості кровотоку LDF-100С неінвазивним шляхом за допомогою поверхневого датчика. Визначали вихідні значення показника мікроциркуляції вушних раковин, тильної поверхні задніх кінцівок та проксимальної третини хвоста тварин, а також зміни показників через 30 хвилин після відтворення ГХТ.

Отримані результати показали існування відмінностей вихідних показників перфузії тканин досліджуваних органів у контрольних статевозрілих тварин. Найменшу різницю досліджуваного показника зареєстровано щодо хвоста, де мікроциркуляція у самок незначно відрізнялась від самців (на 7,73 %, $p > 0,05$). В той же час кровопостачання задніх кінцівок та вушної раковини у самок статистично перевершувало рівні самців (на 15,0 та 69,8 %, відповідно, $p < 0,05$) (табл. 3.4-3.6).

Таблиця 3.4

Зміни мікроциркуляції хвоста (у.о.) у самців та самок щурів після гострої холодової травми ($M \pm m$, $n=7$)

Групи тварин	До холодової травми	Після холодової травми
Статевозрілі (контроль)		
Самці	338,6 \pm 6,48	219,8 \pm 4,21&
Самки	312,4 \pm 3,69	254,3 \pm 7,87*
Кастровані тварини (оваріектомія, орхідектомія)		
Самці	353,9 \pm 5,67	264,1 \pm 7,31#&
Самки	309,2 \pm 4,32*	208,7 \pm 3,39 #&

Примітки: 1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; 2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно статевозрілих тварин відповідної статі; 3. & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі до гострої холодової травми.

Таблиця 3.5

**Зміни мікроциркуляції задніх кінцівок (у.о.) у самців та самок щурів
після гострої холодової травми (M±m, n=7)**

Групи тварин	До холодової травми	Після холодової травми
Статевозрілі (контроль)		
Самці	579,9±13,1	126,36±7,31&
Самки	667,1±7,19*	223,4±6,46*&
Кастровані тварини (оваріектомія, орхідектомія)		
Самці	621,2±6,68#	208,9±3,80#&
Самки	621,7±2,85#	131,8±3,55*#&

Примітки: 1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; 2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно статевозрілих тварин відповідної статі; 3. & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі до гострої холодової травми.

Таблиця 3.6

**Зміни мікроциркуляції вушної раковини (у.о.) у самців та самок щурів
після гострої холодової травми (M±m, n=7)**

Групи тварин	До холодової травми	Після холодової травми
Статевозрілі (контроль)		
Самці	378,7±14,3	169,3±2,80
Самки	643,2±18,4*	358,1±26,7
Кастровані тварини (оваріектомія, орхідектомія)		
Самці	358,7±7,40	212,8±4,69#&
Самки	577,7±26,8*#	303,7±9,16*#&

Примітки: 1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; 2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно статевозрілих тварин відповідної статі; 3. & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі до гострої холодової травми.

2-х годинне перебування тварин під впливом екстремально низьких температур викликає значне падіння кровопостачання органів, що досліджували, у тварин обох статей, очевидно за рахунок судинних змін, які викликає холодний чинник. Виразність змін носить чіткий статевий диморфізм з переважанням патологічних процесів у тварин чоловічої статі. Найбільше постраждали нижні кінцівки тварин, дещо менше – вушні раковини та хвіст.

Так, у самців коефіцієнт мікроциркуляції нижніх кінцівок та вушних раковин зменшились на 72,2, та 55,3 %, а хвоста – на 35,1 %, порівняно з таким показником до дії холодного чинника ($p < 0,05$), натомість у самок щурів зміни аналогічних показників становили 66,5 та 44,3 % (нижні кінцівки та вушні раковини), а перфузія хвоста змінилась найменше – лише на 18,6 % ($p < 0,05$).

Виникає цілком логічне запитання щодо причини виявлених статевих відмінностей у відповіді організму на гостру холодну травму. Предикторами виявленого диморфізму може бути різновекторний вплив гонадальних гормонів. Для підтвердження цієї гіпотези наступну серію дослідів провели на тваринах після хірургічної кастрації (оваріектомії та орхідектомії) у самок та самців, відповідно. Оцінка вмісту статевих гормонів у цих тварин показала, що через 21 добу після операції рівень естрогену у самок знижувався в 9,25 рази (з $0,435 \pm 0,032$ нмоль/л до $0,047 \pm 0,004$ нмоль/л), тоді як у самців вміст тестостерону в периферичній крові – в 18,5 рази (з $48,8 \pm 0,65$ нмоль/л до $2,64 \pm 0,10$ нмоль/л) ($p < 0,05$). Ці зміни асоціювались із зміною патерну мікроциркуляторних порушень за ГХТ. Більш «вразливою» статтю стали самки тварин, тоді як у самців виразність цих змін суттєво зменшилась (див. табл. 3.4-3.6). Перш за все, можна відмітити, що порівняно із тваринами без змін гормонального статусу, вихідні показники перфузії крові хвоста, нижніх кінцівок та вушних раковин у самок щурів виявив тенденцію до зниження, тоді як у самців – навпаки, незначно покращились, хоча ці зміни і не сягали статистично вірогідних значень.

Моделювання ГХТ у кастрованих самок щурів викликала більш масштабні порушення гемоперфузії порівняно з особинами чоловічої статі. Так, показник мікроциркуляції хвоста, задніх кінцівок та вушної раковини у самців щурів на тлі ГХТ знижувався на 25,4, 66,4 та 40,7 %, відповідно ($p < 0,05$), натомість у тварин протилежної статі – на 32,5, 78,8 та 47,4 %, відповідно ($p < 0,05$).

Тобто, наші результати підтвердили, що генетично детермінований рівень статевих гормонів формує відповідне «тло», на якому організм самок виявляється більш стійким щодо впливу різних екстремальних чинників, в т.ч. і температурних.

3.4 Дослідження впливу статі та різної насиченості організму статевими гормонами на скоротливість хвостових артерій щурів за гострої холодової травми

Результати дослідження статевих особливостей ендотелій-залежної вазодилатації хвостової артерії щурів, індукованої ацетилхоліном, наведені на рис. 3.1-3.4. Виявилось, що у самців та самок щурів існують вірогідні відмінності чутливості кільцевих фрагментів хвостової артерії до вазодилатуючої дії ацетилхоліну. Так, у самок щурів ацетилхолін в діапазоні низьких концентрацій (0,01-0,1 мкмоль/л) викликає помірну вазодилатацію (на 17,6-32,3 %) попередньо скорочених фенілефрином препаратів хвостової артерії. Збільшення концентрації ацетилхоліну в перфузійному розчині (1-10 мкмоль/л) супроводжується більш виразною релаксацією (на 80,1-89,8 %) фрагментів хвостової артерії. За цих умов середньоєфективна концентрація ацетилхоліну становить $0,157 \pm 0,009$ мкмоль/л.

У самців щурів чутливість хвостової артерії до ацетилхоліну є вірогідно меншою порівняно з самками: крива «доза-ефект» (див. рис. 3.1) зміщується праворуч, а середньоєфективна концентрація ацетилхоліну є вірогідно більшою ніж у самок. Ацетилхолін в діапазоні концентрацій 0,01-10 мкмоль/л

викликає менш виразну вазодилатацію порівняно з самками: розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії самців коливається в межах від 14,1 до 81,2 %. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самців становить $0,202 \pm 0,008$ мкмоль/л, що за середнім показником на 28,7 % ($p < 0,05$) більше порівняно з самками щурів.

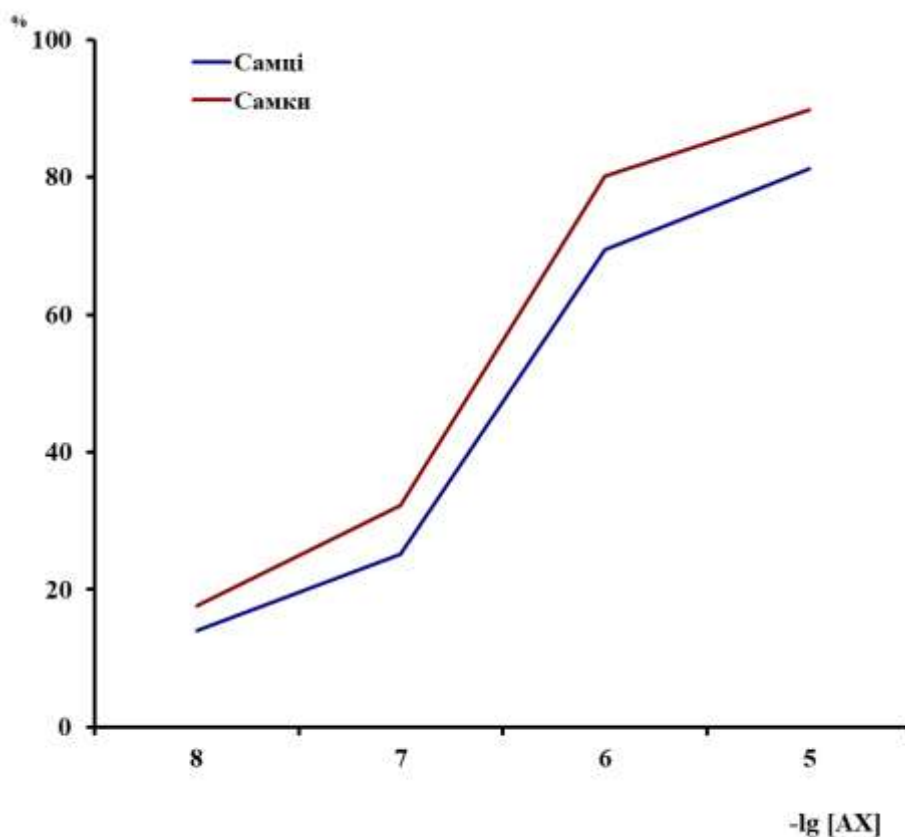


Рис. 3.1. Дозозалежність ацетилхолін-індукованого розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії самців і самок щурів. По осі абсцис – від’ємний десятковий логарифм концентрації ацетилхоліну (М) у перфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів аорти під впливом наростаючих концентрацій ацетилхоліну. За 100 % прийнятий рівень ацетилхолін-індукованого розслаблення фрагментів хвостової артерії щурів, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-ініційованого передскорочення. На цьому та наступних рисунках наведені усереднені дані 4 дослідів.

Гостра холодова травма викликає вірогідне зменшення ацетилхолін-ініційованого розслаблення фрагментів хвостової артерії у самців та самок щурів, причому виразність змін залежала від статі (див. рис. 3.2-3.4).

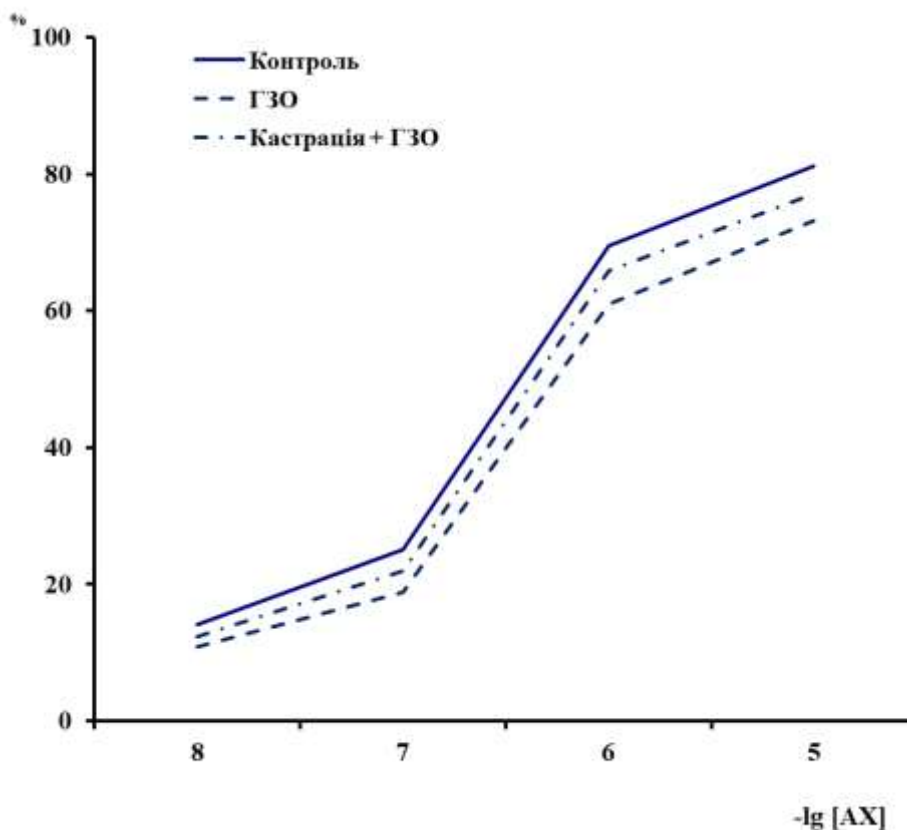


Рис. 3.2. Вплив різного рівня статевих гормонів на дозозалежність ацетилхолін-індукованого розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії **самців щурів** за ГХТ. По осі абсцис – від'ємний десятковий логарифм концентрації ацетилхоліну (M) у перфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів аорти під впливом наростаючих концентрацій ацетилхоліну. За 100 % прийнятий рівень ацетилхолін-індукованого розслаблення фрагментів хвостової артерії щурів, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-ініційованого передскорочення.

У самців тварин ГХТ супроводжується зміщенням кривої «доза-ефект» праворуч: в діапазоні концентрацій ацетилхоліну від 0,01 до 10 мкмоль/л розслаблення, передскороченої фенілефрином, хвостової артерії коливалося в

межах 10,9-73,2 %, що було достовірно меншим ніж у контрольної групи самців. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самців з ГХТ становить $0,259 \pm 0,012$ мкмоль/л і за середнім показником на 28,2 % ($p < 0,05$) перевищує значення відповідного контролю.

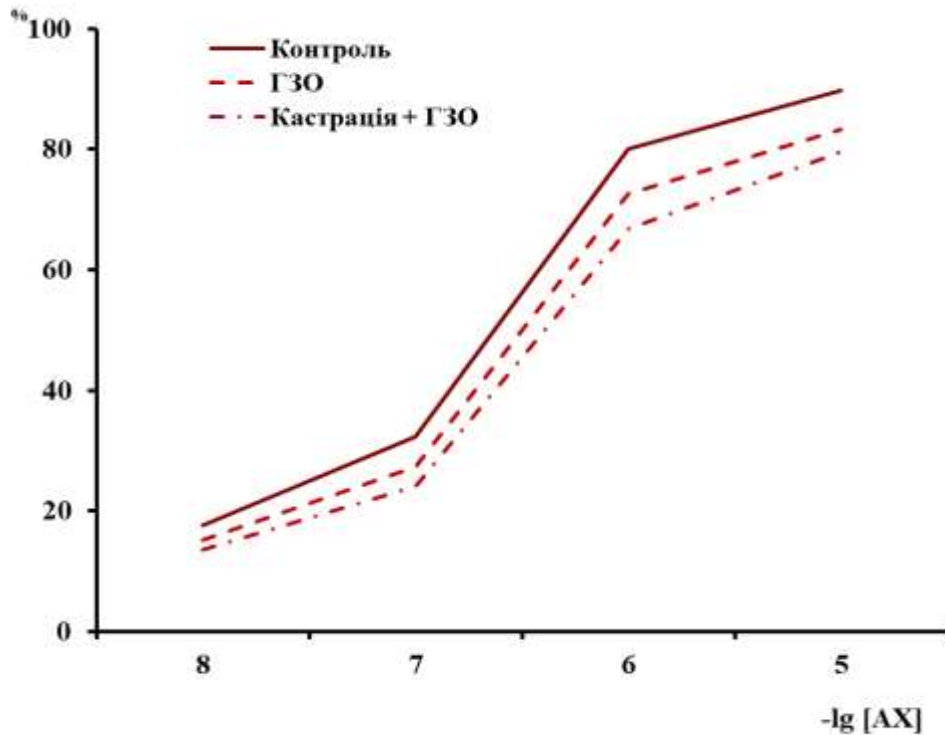


Рис. 3.3. Вплив різного рівня статевих гормонів на дозозалежність ацетилхолін-індукованого розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії **самок щурів** за ГХТ. По осі абсцис – від'ємний десятковий логарифм концентрації ацетилхоліну (М) у перфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів аорти під впливом наростаючих концентрацій ацетилхоліну. За 100 % прийнятий рівень ацетилхолін-індукованого розслаблення фрагментів хвостової артерії щурів, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-ініційованого передскорочення.

ГХТ самок щурів також викликає зміщення кривої «доза-ефект» праворуч, але менш виразне ніж у самців: в діапазоні концентрацій ацетилхоліну від 0,01 до 10 мкмоль/л розслаблення, передскороченої

фенілефрином, хвостової артерії коливалось в межах 15,2-83,3 %, що було вірогідно меншим ніж у контрольній групі самок. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самок з ГХТ становить $0,183 \pm 0,008$ мкмоль/л і за середнім показником на 16,6 % ($p < 0,05$) перевищує значення відповідного контролю.

Модулювання рівня статевих гормонів змінює чутливість тварин різної статі до ендотеліотоксичної дії ГХТ (див. рис. 3.4).

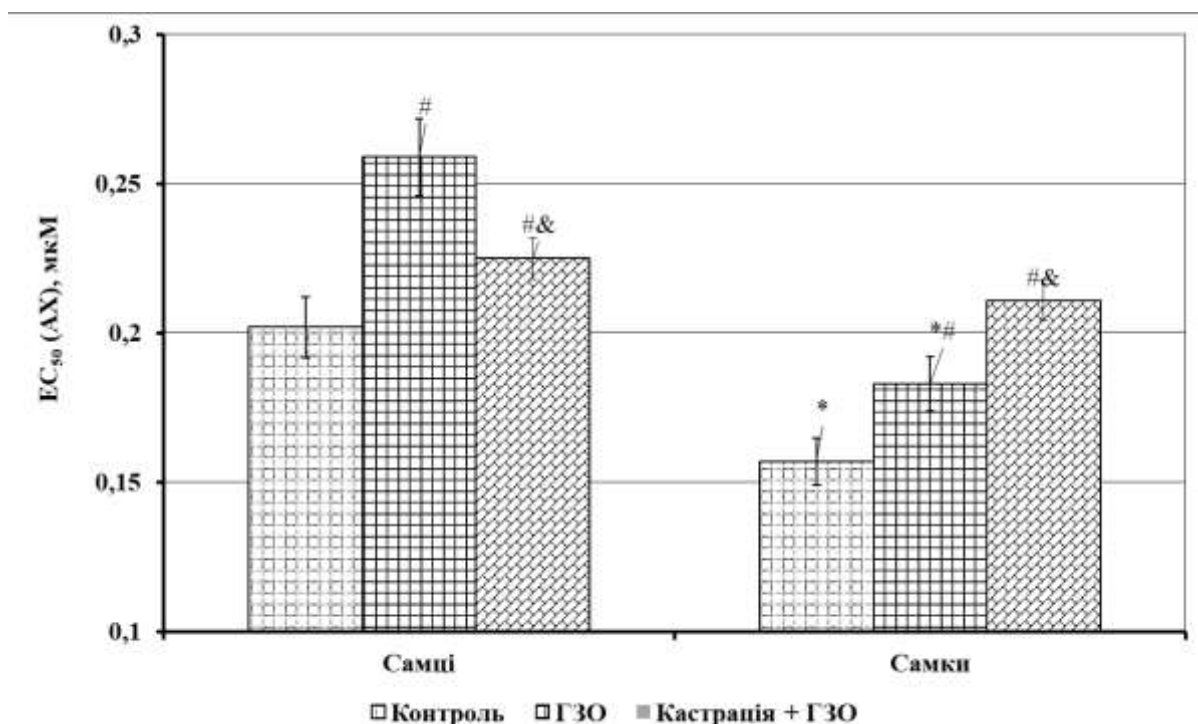


Рис. 3.4. Вплив різного рівня статевих гормонів на середньоефективну концентрацію ацетилхоліну ($EC_{50}(ACh)$) у хвостовій артерії самців та самок щурів за ГХТ. Примітки: 1. * - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність між самцями та самками щурів у межах групи; 2. # - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність відносно контрольної групи; 3. & - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність відносно тварин з ГХТ

Зясувалось, що кастрація самців зменшує їх чутливість до негативного впливу ГХТ на ендотелій: крива «доза-ефект» зміщувалась ліворуч відносно такої у тварин з ГХТ без змін гормонального статусу. Поряд з цим відмічається

зменшення середньоефективної концентрації ацетилхоліну на 13,1 % ($p < 0,05$) відносно некастрованих самців, які отримували гостру холодову травму.

В той же час кастрація самок навпаки потенціює ендотеліотоксичну дію ГХТ: крива «доза-ефект» зміщувалась праворуч відносно такої у щурів з ГХТ без змін гормонального статусу. Також реєструється зростання середньоефективної концентрації ацетилхоліну на 15,3 % ($p < 0,05$) відносно некастрованих самок з гострою холодовою травмою.

Таким чином, стать та рівень насиченості організму тварин статевими гормонами є важливими факторами розвитку ендотеліальної дисфункції за гострої холодової травми. Показано, що естрогени виявляють захисну дію на ендотелій периферичних судин, тоді як тестостерон сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції на тлі ГХТ.

3.5 Статеві особливості гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів у щурів за умов експериментальної гострої холодової травми

Мета цієї частини роботи: дослідити статеві відмінності в системі гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів щурів за гострої холодової травми

Виявлено, що у тварин контрольної групи не було виявлено статевих відмінностей в усіх показниках, які характеризували коагуляційний гемостаз (табл. 3.7). Натомість показники спонтанної та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів (АТ) у самок щурів були статистично меншими, ніж 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. 3.7). 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, ТЧ та вмісту протеїну С – на 28,4, 27,4 та 18,4 %, відповідно ($p < 0,05$).

**Вплив статі та рівня статевих гормонів на параметри згортання крові за
гострої холодової травми ($M \pm m$, $n=10$)**

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	ПЧ, с	17,7±0,23	17,9±0,30
2	АЧТЧ, с	34,1±0,95	34,7±0,61
3	ТЧ, с	9,65±0,19	9,78±0,22
4	Протеїн С, %	101±1,38	103±1,26
5	ПАІ-1, нг/мл	1,70±0,13	1,60±0,11
Гостра холодова травма			
1	ПЧ, с	53,4±0,78#	47,5±0,62*#
2	АЧТЧ, с	24,4±1,12#	27,8±1,05*#
3	ТЧ, с	7,01±0,23#	7,74±0,25*#
4	Протеїн С, %	82,4±1,56#	87,2±1,44*#
5	ПАІ-1, нг/мл	3,48±0,15#	2,95±0,16*#
Кастрація + Гостра холодова травма			
1	ПЧ, с	51,6±0,74#	52,9±1,16#\$
2	АЧТЧ, с	25,5±1,18#	23,1±0,99#\$
3	ТЧ, с	7,18±0,19#	6,92±0,22#\$
4	Протеїн С, %	83,0±1,75#	78,2±1,66#
5	ПАІ-1, нг/мл	3,21±0,12#	3,48±0,18#

Примітки:

- * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
- # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
- \$ - $p < 0,05$ відносно некастрованих тварин з ГХТ.

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 протеїн С зменшувались на 19,9, 21,6 та 15,3 %, відповідно ($p < 0,05$). Підвищення вмісту цього показника,

разом із суттєвим зменшенням протеїну 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 ($p < 0,05$)). 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.

Як засвідчили отримані результати, у кастрованих тварин також були виявляла суттєві зміни гемостазіологічних показників порівняно з некастрованими тваринами (див. табл. 3.7). Так, показник ПЧ та ПАІ-1 зростали у самців в 2,92 та 1,89 рази, порівняно з тваринами до холодової травми, а у самок аналогічні показники збільшувались в 2,96 та 2,17 рази. Ці зміни супроводжувались скороченням АЧТЧ, ТЧ та вмісту протеїну С у самців на 25,2, 25,6 та 17,8 %, відповідно ($p < 0,05$). Аналогічні показники у кастрованих самок зменшувались на 33,4, 29,2 та 24,1 %, відповідно ($p < 0,05$). Тобто, жіноча стать після оварієктомії стала більш вразливою щодо холодового впливу, порівняно з чоловічою.

На нашу думку, головною причиною існування гендер-специфічних порушень в системі згортання крові та агрегації тромбоцитів за експериментальної ГХТ, як і стосовно інших параметрів стану судинного русла є вплив гонадальних гормонів. Саме естрогени в фізіологічних кількостях завдяки негеномним ефектам, що реалізуються через зв'язування з β -естрогеновими цитоплазматичними рецепторами, виявляють протизапальну антиоксидантну та вазодилатуючу дію, які суттєво протидіють негативному впливу екстремального чинника на жіночий організм (табл. 3.8) [209, 210].

**Вплив статі та різного рівня статевих гормонів на параметри агрегації
тромбоцитів за гострої холодової травми ($M \pm m$, $n=10$)**

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	Спонтанна АТ, %	4,02±0,30	3,18±0,25*
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	35,2±1,65	30,3±1,42*
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, % за 1 хв	29,5±1,05	25,7±1,17*
Гостра холодова травма			
1	Спонтанна АТ, %	6,85±0,54#	4,81±0,36*#
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	58,9±1,87#	43,2±1,67*#
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, % за 1 хв	41,3±1,36#	32,9±1,29*#
Кастрація + Гостра холодова травма			
1	Спонтанна АТ, %	5,30±0,49#\\$	6,18±0,56#\\$
2	Ступінь АДФ-індукованої АТ, %	49,5±1,76#\\$ +40,6	50,9±1,85#\\$
3	Швидкість АДФ-індукованої АТ, % за 1 хв	36,6±1,28#\\$	38,2±1,36#\\$

Примітки:

- * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
- # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
- \\$ - $p < 0,05$ відносно некастрованих тварин з ГХТ.

Кастрація тварин супроводжувалась змінами стать-специфічного паттерну динаміки агрегаційного гемостазу: у самців ступінь змін були значно менш виразною, порівняно із самками: так, за ГХТ активація спонтанної

агрегації тромбоцитів збільшувалась на 31,8 % у самців та на 94,3 % у самок ($p < 0,05$). Підвищення ступеню та швидкості АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів у кастрованих самців було меншим, ніж у статевозрілих тварин, і становило 40,6 і 24,1 %, тоді як у кастрованих самок – навпаки, більшим, і становило 67,9 і 48,6 %, відповідно ($p < 0,05$).

3.6 Вплив статі та різної насиченості організму статевими гормонами на функціональний стан ендотелію за умов гострої холодової травми

В цьому підрозділі досліджено особливості функціонального стану ендотелію судин у щурів різної статі в контрольній групі, на тлі ГХТ, а також за умов поєднання ГХТ у кастрованих тварин.

Спершу оцінили стан ендотеліальної функції за сироватковими рівнями вазоконстриктору ендотеліну-1 та вазодилітаторів гідроген сульфід та метаболітів нітроген монооксиду у щурів контрольної та дослідної груп (табл. 3.9).

Виявилось, що у контрольній групі тварин рівень ендотеліну-1 в сироватці крові самців вірогідно не відрізняється від відповідного показника самок. В той же час сироваткові рівні H_2S та NO у самок є вірогідно більшими відповідно на 17,4 та 50,5 % ($p < 0,05$) порівняно з показниками у самців.

За умов гострого загального охолодження відмічається порушення функціонального стану ендотелію про що доказово свідчать вірогідні зміни вмісту вазоактивних медіаторів у сироватці крові. В групі тварин з ГХТ реєструється вірогідне зростання рівня ендотеліну-1 в сироватці крові самців та самок щурів відповідно на 45 та 27,9 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. За цих умов виникають вірогідні статеві відмінності сироваткового рівня ендотеліну-1: у самців його рівень на 15,5 % ($p < 0,05$) перевищує такий у самок.

**Вплив статі та різного рівня статевих гормонів на вміст вазоактивних медіаторів в сироватці крові за гострої холодової травми
($M \pm m$, n=10)**

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	Ендотелін-1, нг/л	62,4±2,15	59,8±2,03
2	H ₂ S, мкмоль/л	75,2±2,50	88,3±2,78*
3	NO, мкмоль/л	30,5±1,54	45,9±1,69*
Гостра холодова травма			
1	Ендотелін-1, нг/л	90,5±3,01#	76,5±2,59*#
2	H ₂ S, мкмоль/л	52,6±1,95#	70,7±2,15*#
3	NO, мкмоль/л	20,8±1,44#	34,4±1,55*#
Кастрація + Гостра холодова травма			
1	Ендотелін-1, нг/л	80,4±2,54#\$	86,2±2,58#\$
2	H ₂ S, мкмоль/л	63,2±2,04#\$	60,5±1,91#\$
3	NO, мкмоль/л	26,0±1,60#\$	29,1±1,70#\$

Примітки:

- * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
- # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
- \$ - $p < 0,05$ відносно некастрованих тварин х ГХТ.

На тлі ГХТ поряд зі збільшенням сироваткового вмісту вазоконстриктору ендотеліну-1 відмічається формування дефіциту вазодилітаторних молекул у тварин обох статей, причому виразність змін у самців перевищує таку в самок щурів. У самців з ГХТ спостерігається статистично достовірне зменшення сироваткових рівнів H₂S та NO відповідно на 30,1 та 31,8 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. У самок щурів вірогідне зниження вмісту H₂S та NO в сироватці крові є менш суттєвим і становить відповідно 19,9 та 25,1 % ($p < 0,05$) відносно контролю. За цих умов

відмічається поглиблення статевих відмінностей вмісту вазодилітаторів у сироватці крові: рівні H_2S та NO у самок є вірогідно більшими відповідно на 34,4 та 65,4 % ($p < 0,05$) порівняно з самцями.

Кастрація тварин змінює вектор статевих відмінностей впливу ГХТ на сироваткові рівні вазоактивних медіаторів. Так, на тлі гонадектомії тварин ГХТ також супроводжується накопиченням вазоконстриктора ендотеліну-1, але виразність змін більш суттєві саме у кастрованих самок. У групі кастрованих самців збільшення сироваткового рівня ендотеліну-1 становить 28,9 % ($p < 0,05$), а у кастрованих самок – 44,2 % відносно контролю. За цих умов нівелюються статеві відмінності сироваткового рівня цієї вазоактивної молекули в сироватці крові.

ГХТ у гонадектомованих тварин спричиняє зменшення рівнів вазодилітаторних молекул, причому масштабність змін значно перевищує у самок ніж у самців. У групі кастрованих самців зменшення сироваткових рівнів H_2S та NO становить відповідно 16 та 14,8 % ($p < 0,05$), а у кастрованих самок – відповідно 31,5 та 36,6 % відносно контролю. За цих умов відмічається зникнення статистично вірогідних статевих відмінностей вмісту H_2S та NO в сироватці крові.

Далі нами оцінені статеві особливості змін маркерів запального пошкодження судинної стінки, а саме сироваткових рівнів молекул адгезії та прозапального цитокіну, на тлі ГХТ, а також за умов ГХТ, поєднаної з кастрацією тварин (табл. 3.10).

Виявилось, що в контрольній групі тварин існують вірогідні статеві відмінності сироваткового рівня sVCAM-1: цей показник у самців тварин на 13,3 % перевищує такий у самок. В той же час нами не виявлено наявності статистично достовірних відмінностей рівня $IL-1\beta$ в сироватці крові самців та самок щурів.

Вплив статі та різного рівня статевих гормонів на вміст розчинної молекули адгезії судинних клітин та прозапального цитокіну за гострої холодової травми ($M \pm m$, $n=10$)

№ з/п	Показник	Самці	Самки
Контрольна група			
1	sVCAM-1, нг/мл	520±15,4	451±16,4*
2	IL-1β, пг/мл	45,2±0,45	44,1±0,47
Гостра холодова травма			
1	sVCAM-1, нг/мл	686±17,8#	563±16,3*#
2	IL-1β, пг/мл	148±3,39#	110±3,07*#
Кастрація + Гостра холодова травма			
1	sVCAM-1, нг/мл	587±18,5#\$	634±19,5#\$
2	IL-1β, пг/мл	126±2,89#\$	132±3,05#\$

Примітки:

- * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
- # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи;
- \$ - $p < 0,05$ відносно некастрованих тварин з ГХТ.

ГХТ у тварин обох статей супроводжується розвитком запального пошкодження стінки судин, причому у самців масштабність виявлених змін вірогідно більші ніж у самок. У самців з ГХТ спостерігається статистично достовірне зростання сироваткових рівнів sVCAM-1 та IL-1β відповідно на 31,9 та 227 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. У самок щурів вірогідне підвищення вмісту sVCAM-1 та IL-1β в сироватці крові є менш виразними і становить відповідно 24,8 та 149 % ($p < 0,05$) відносно контролю. За цих умов відмічається поглиблення статевих відмінностей сироваткового вмісту sVCAM-1 та поява таких відмінностей у рівні IL-1β: вміст sVCAM-1 та IL-1β у сироватці крові самців є вірогідно більшими відповідно на 17,9 та 25,7 % ($p < 0,05$) порівняно з самками.

За умов кастрації тварин реєструється зміна направленості статевих відмінностей щодо впливу ГХТ на сироваткові рівні sVCAM-1 та IL-1 β . У тварин на тлі гонадектомії ГХТ супроводжується накопиченням в сироватці крові sVCAM-1 та IL-1 β , причому виразність змін є вірогідно більшою саме у кастрованих самок. Так, у групі кастрованих самців збільшення сироваткових рівнів sVCAM-1 та IL-1 β становить відповідно 12,9 та 179 % ($p < 0,05$), а у кастрованих самок – 40,6 та 199 % відносно контролю. За цих умов нівелюються статеві відмінності сироваткових рівнів цих регуляторних молекул в сироватці крові.

Проведені дослідження засвідчили, що у самців та самок щурів існують відмінності у базальному рівні вазоактивних медіаторів, маркерів адгезії судинних клітин, що ймовірно є однією із причин статевих відмінностей впливу ГХТ на тонус й реактивність судинної стінки.

ГХТ супроводжується розвитком ендотеліальної дисфункції у тварин обох статей про що доказово свідчать зміни сироваткового рівня вазоактивних медіаторів (зростання вмісту ендотелін-1 та зниження H₂S й NO) та маркерів запального пошкодження судин (зростання рівнів sVCAM-1 та IL-1 β). Масштабність змін функціонального стану ендотелію на тлі ГХТ детермінується статтю: у самців виразність ендотеліальної дисфункції вірогідно більша ніж у самок тварин. Кастрація тварин до певної міри змінює вектор стать-специфічних змін функціонального стану ендотелію судин на тлі ГХТ. За цих умов виразність ендотеліальної дисфункції є вірогідно більшою у кастрованих самок ніж у гонадектомованих самців.

Стан оксидантно-антиоксидантної системи в організмі експериментальних тварин оцінювали за активністю НАДФН-оксидази як головного продуцента супероксид-аніону та супероксиддисмутази (табл. 3.11). Встановлено, що у самців в сироватці крові активність НАДФН-оксидази достовірно більшою, а активність СОД – меншою відповідно на 13,14 та 15,34 % ($p < 0,05$), ніж у самок.

Стан про-та антиоксидантних ферментних систем сироватки крові у самців та самок щурів за гострої холодової травми ($M \pm m$, $n=10$)

№ з/п	Активність ферментів	Самці	Самки
Контрольна група			
1	НАДФН-оксидаза, нмоль/хв·мг протеїну	5,25±0,15	4,56±0,13* -13,14
2	СОД, ум.од./мг протеїну	25,4±1,43	29,3±1,52* +15,35
Гостра холодова травма			
1	НАДФН-оксидаза, нмоль/хв·мг протеїну	7,35±0,19# +43,55	5,93±0,17*# -19,32 +30,4
2	СОД, ум.од./мг протеїну	20,0±1,30# -21,25	25,5±1,46*# +27,5 -12,96

Примітки:

- * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи;
- # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи

Гостра холодова травма викликала активацію оксидативного стресу у тварин обох статей, про що свідчать елевація прооксидантного ензиму НАДФН-оксидази та депресія активності ензиму антиоксидантного захисту СОД. Однак у самців активність цих показників змінювалась вірогідно більше: так зростання НАДФ-оксидази у самців було на 43,55 %, тоді як у самок – на 30,4 %, а зменшення активності СОД становило 21,25 та 12,96 % у самців та самок, відповідно ($p < 0,05$). Статеві відмінності в бік переважання оксидативних процесів у тварин чоловічої статі зберігались.

3.7 Морфологічні зміни шкіри у статевозрілих і кастрованих самців та самок щурів на тлі ГХТ

В продовження попередніх досліджень було проведено вивчення морфологічних змін в структурі шкіри хвоста у некастрованих та кастрованих самок і самців щурів за експериментальної ГХТ, яку було описано в розділі 2.

Отриману гістологічну картину порівнювали із такою у щурів без експериментальної патології (контроль) [233].

Встановлено, що в контрольній групі при мікроскопічному дослідженні шкіра хвоста у щурів обох статей в практично не відрізнялась і мала нормальну гістологічну пошарову будову (рис. 3.5, 3.6).

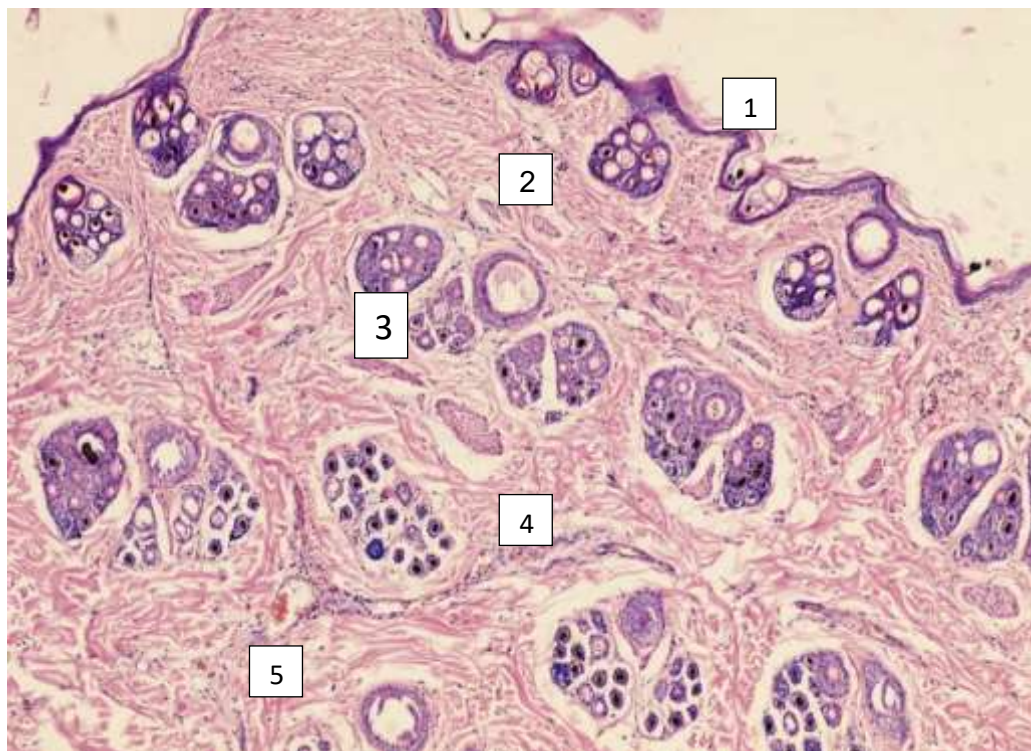


Рис. 3.5. Шкіра хвоста щура контрольної групи. Нормальна пошарова будова: епідерміс (1) і дерма (2) з додатками (3) – волосяними фолікулами, нервовими стовбурами (4), дещо повнокровними судинами (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

Епідерміс рівномірної товщини, представлений базальним шаром дрібних епітеліоцитів, які в деяких ділянках черепицеподібно накладалися один на одного, двома-трьома рядами шипуватих епітеліоцитів, зернистими клітинами і розташованими над ними роговими епітеліоцитами. Дерма включала два шари – сосочковий і сітчастий, без чіткої межі між ними. Сосочковий шар був дещо згладжений, з мало вираженими рідко розташованими сосочками. Обидва шари дерми були представлені місцями пухкою, а місцями щільною оформленою фіброзною тканиною, волокна якої

мали різну спрямованість: частина волокон розташовувалась паралельно поверхні шкіри, частина – під кутом до неї.

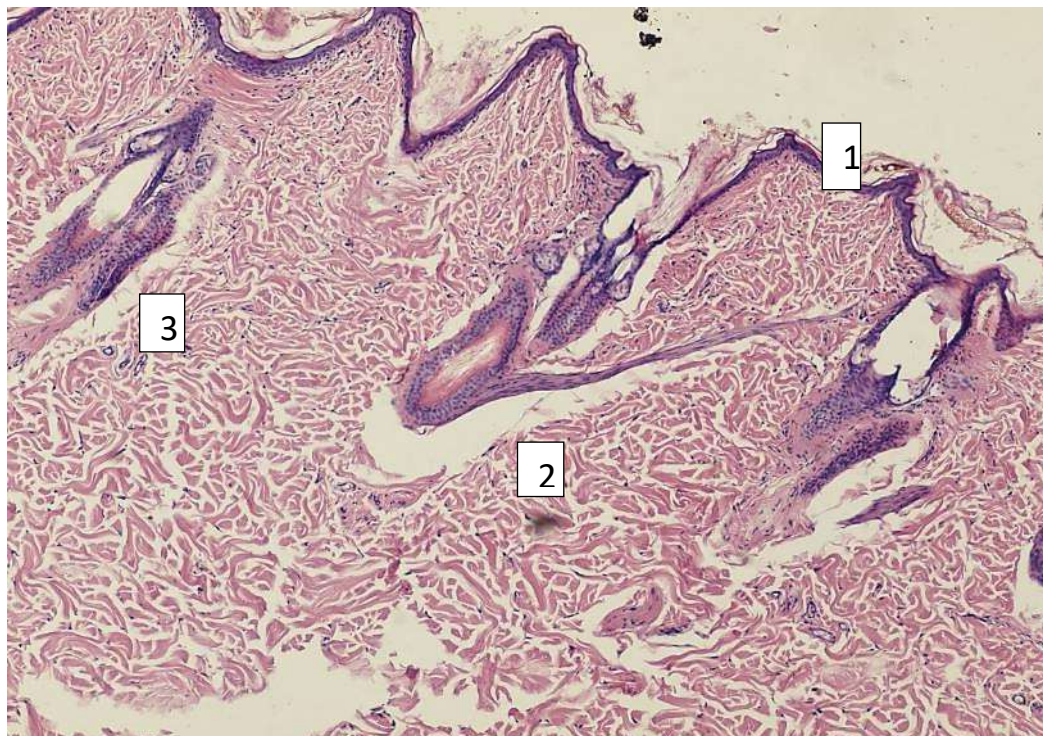


Рис. 3.6. Шкіра хвоста щура контрольної групи. Нормальна гістологічна пошарова будова шкіри – епідерміс рівномірної товщини (1), дерма (2) з додатками – волосяними фолікулами (3) – волосяними фолікулами); інтактна група. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

Клітинні елементи дерми були представлені нечисленними клітинами фібробластичного ряду і тканинними макрофагами. У дермі визначали не змінені судини мікроциркуляторного русла (капіляри, артеріоли та венули), нервові волокна та додатки шкіри – сальні та потові залози, волосяні фолікули. Дерма без чіткої межі переходила в підшкірну жирову клітковину (гіподерму), представлену адипоцитами. Жирові клітини мали округлу або овальну форму, формували часточки різних розмірів, розмежовані тонкими прошарками пухкої фіброзної тканини, яка є продовженням фіброзної тканини дерми. У фіброзній стромі жирової тканини визначали судини мікроциркуляторного русла і нервові волокна без патологічних змін. Глибше гіподерми відзначалися волокна поперечно-м'язової тканини, між якими також спостерігали тонкі

прошарки фіброзної тканини, судини мікроциркуляторного русла і нервові волокна без ознак патології.

Іншу картину спостерігали при мікроскопії шкіри хвоста щурів в групі тварин, які зазнали ГХТ. Так, в шкірі хвоста некастрованих щурів-самців виявлено значні дистрофічні зміни в епідермісі, дермі та нервових волокнах (рис. 3.7, 3.8).

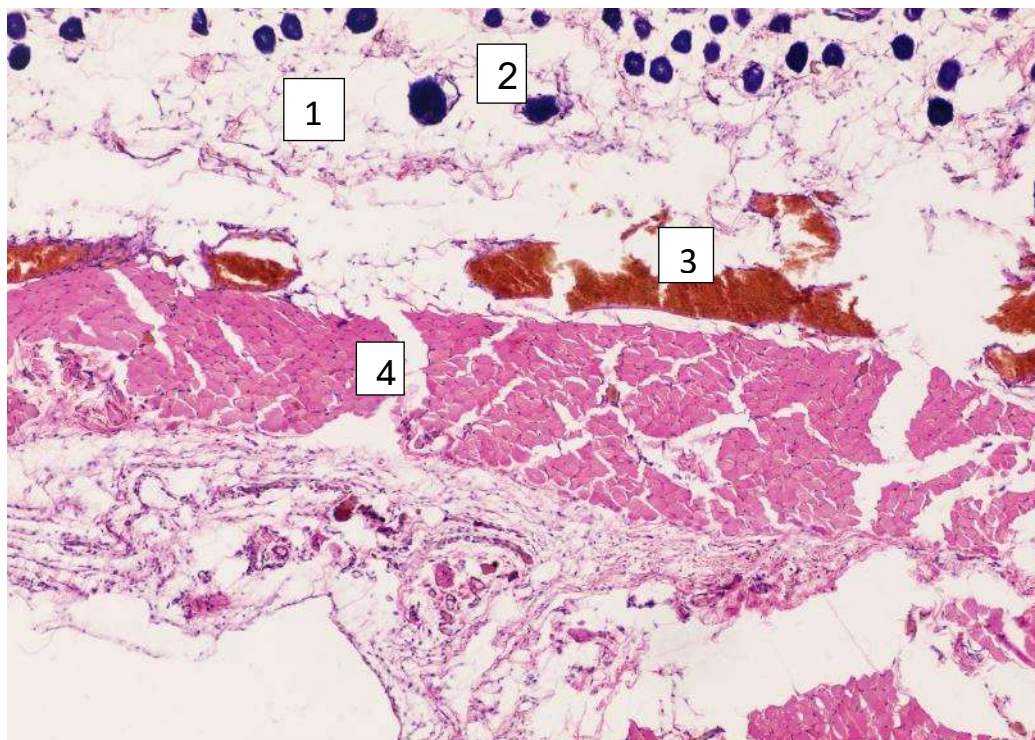


Рис. 3.7. Патологічні зміни шкіри хвоста у некастрованих щурів-самців на тлі ГХТ. Виражений набряк та розшарування дерми (1); деформовані волосяні фолікули (2); дилатовані тромбовані судини з відсутньою ендотеліальною устілкою (3); набряк та розшарування м'язової тканини (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

Епідерміс був нерівномірної товщини за рахунок дистрофічних змін епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав виражені сосочки за рахунок контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини. Додатки шкіри були деформовані. У дермі спостерігали помірну лімфогістіоцитарну інфільтрацію. Мали місце виражені порушення мікрогемоциркуляції у вигляді еритростазу, лейкостазу, мікротромбозу, периваскулярного набряку.

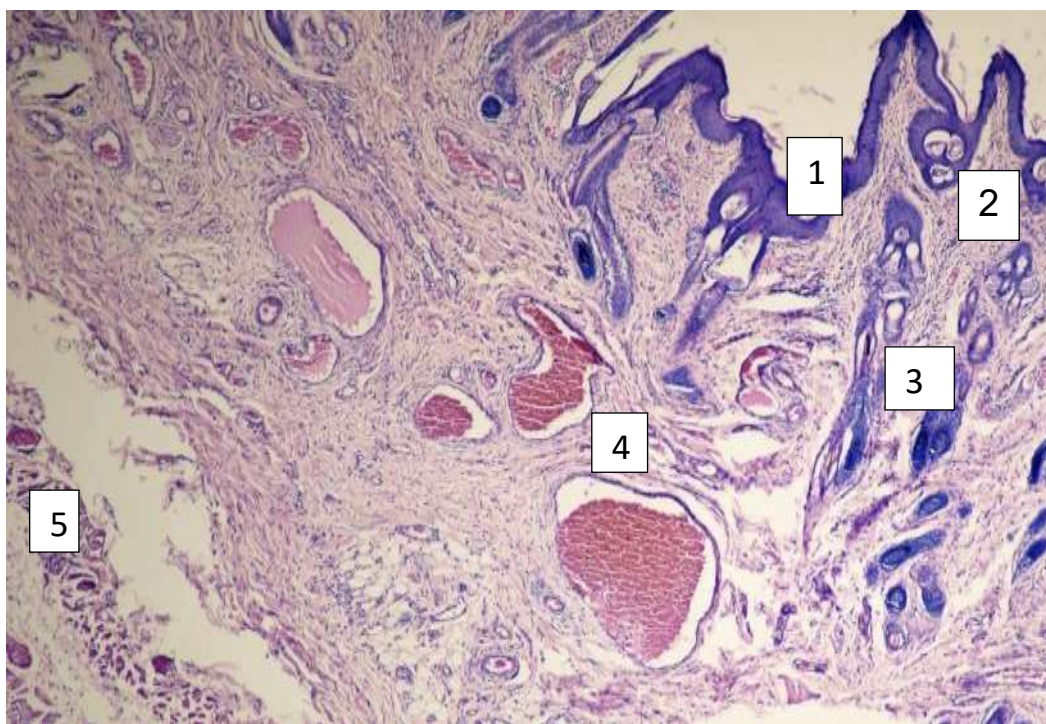


Рис. 3.8. Патологічні зміни шкіри хвоста у некастрованих щурів-самців на тлі ГХТ. Епідерміс нерівномірної товщини (1); виражені дермальні сосочки з помірною лімфогістіоцитарною інфільтрацією (2); деформовані волосяні фолікули (3); дилатовані тромбовані судини (4); набряк м'язової тканини (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

Судини дерми та гіподерми були дилатовані, вистелені витонченим ендотелієм, місцями позбавлені ендотеліальної устілки, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. Зазначені патоморфологічні зміни свідчать про значний вплив ішемічного чинника при дії ГХТ на шкіру самців. М'язові волокна розташовувалися пухко з наявністю альтеративних змін, представлених набряком та дистрофією – на різних ділянках в м'язових волокнах визначалися розширення і здуття, контракційні зміни, втрата поперечної посмугованості.

В усіх елементах шкіри хвостів щурів-самок цієї групи також визначалися дистрофічні зміни в епідермісі, дермі та нервових волокнах, але вони були менш виразні, ніж у самців (рис. 3.9, 3.10).

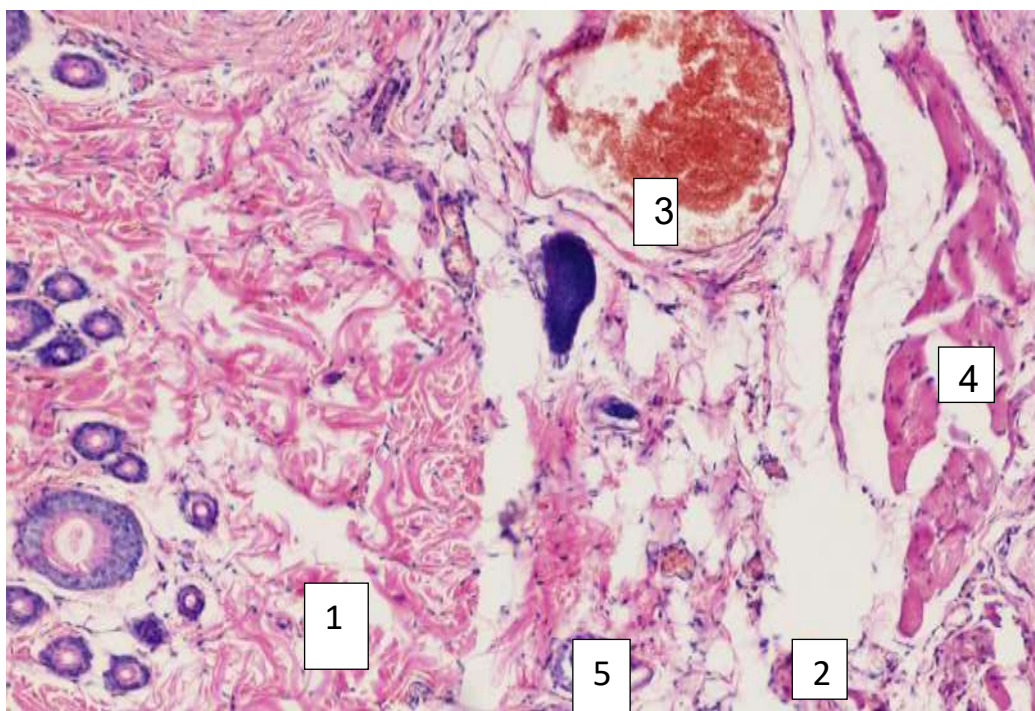


Рис. 3.9. Патологічні зміни шкіри хвоста у некастрованих щурів-самок на тлі ГХТ. Незначний набряк та розшарування дерми (1) та гіподерми (2); дилатована повнокровна вена без ендотеліальної устілки (3); незначний набряк та розшарування м'язової тканини з дистрофічними змінами міоцитів (4), незначна вогнищева деформація волосяних фолікулів (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Порушення мікрогемоциркуляції було помірним у вигляді еритростазу, лейкостазу, периваскулярного набряку. Тромбоз судин мікроциркуляторного русла не визначався. Епідерміс був майже однакової товщини за рахунок незначних дистрофічних змін епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав помірно виражені сосочки за рахунок помірних контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини. Додатки шкіри були незначно деформовані. Також у дермі визначали вогнищеву периваскулярну лімфогістіоцитарну інфільтрацію. Судини дерми та гіподерми були помірно дилатовані, вистелені витонченим ендотелієм, місцями позбавлені ендотеліальної устілки, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. Це може свідчити про менш виражений вплив ішемічного чинника при дії ГХТ на шкіру щурів самок, ніж самців.

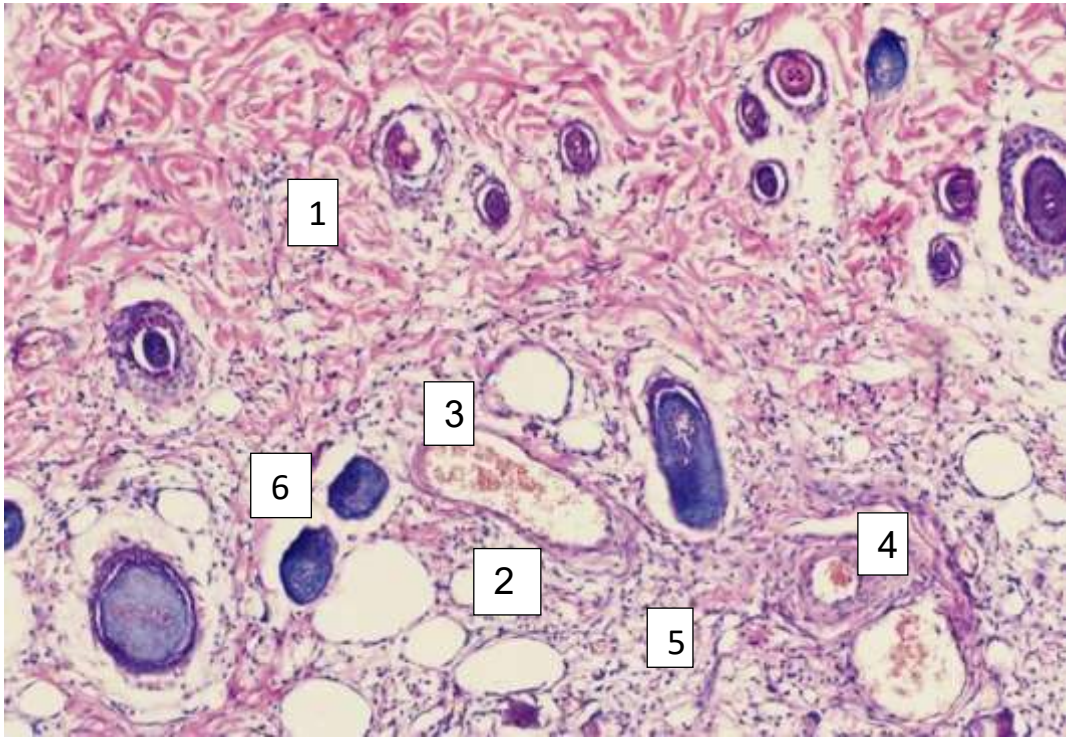


Рис. 3.10. Патологічні зміни шкіри хвоста у некастрованих щурів-самок на тлі ГХТ. набряк та розшарування дерми (1) та гіподерми (2); дилатована тромбована вена без ендотеліальної устілки (3); спазмована артерія (4); помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація (5), незначно деформовані волосяні фолікули (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

М'язові волокна розташовувалися пухко з наявністю незначних альтеративних змін, представлених набряком та дистрофією, на різних ділянках в м'язових волокнах визначалися розширення і здуття, мало виражені контракційні зміни без втрати поперечної посмугованості.

В групі кастрованих тварин при морфологічному дослідженні також виявлено дистрофічні зміни шкіри хвоста на тлі ГХТ, які були більш виразними, ніж в попередній групі. Так, в усіх елементах шкіри хвоста щурів-самок мали місце помірні порушення мікрогемодинаміки у вигляді еритростазу, лейкостазу, незначного периваскулярного набряку, при цьому тромбоз судин мікроциркуляторного русла не визначався (рис. 3.11, 3.12).

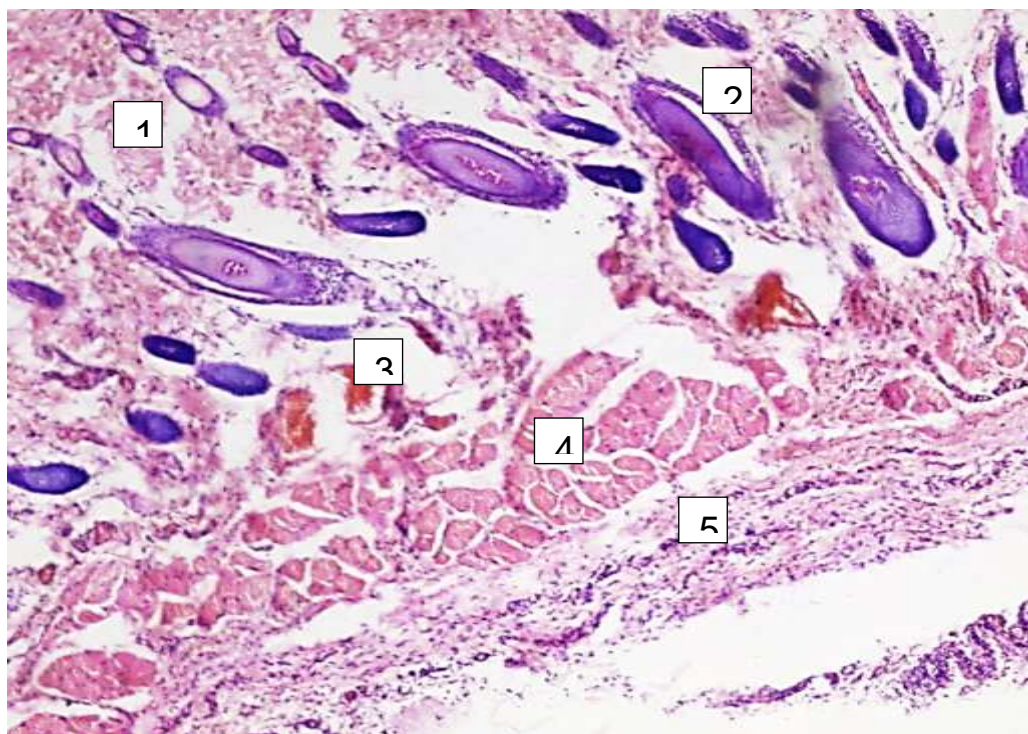


Рис. 3.11. Патологічні зміни шкіри хвоста у кастрованих щурів-самок на тлі ГХТ. Помірний набряк дерми з вогнищевою контракцією колагенових волокон (1); деформовані волосяні фолікули (2); повнокровна вена з розшарованою стінкою (3); набряк та контракція м'язових волокон (4); помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Епідерміс був нерівномірної товщини за рахунок дистрофічних змін епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав досить виражені сосочки за рахунок помірних контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини дерми. Додатки шкіри були незначно деформовані. У дермі визначалась вогнищева периваскулярна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Судини дерми та гіподерми були розширені, вистелені витонченим ендотелієм, з еритростазами, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. Зазначені патоморфологічні зміни свідчать про помірний вплив ішемічного чинника при дії ХТ. М'язові волокна розташовувалися пухко через набряк, подекуди визначались контракційні зміни міоцитів

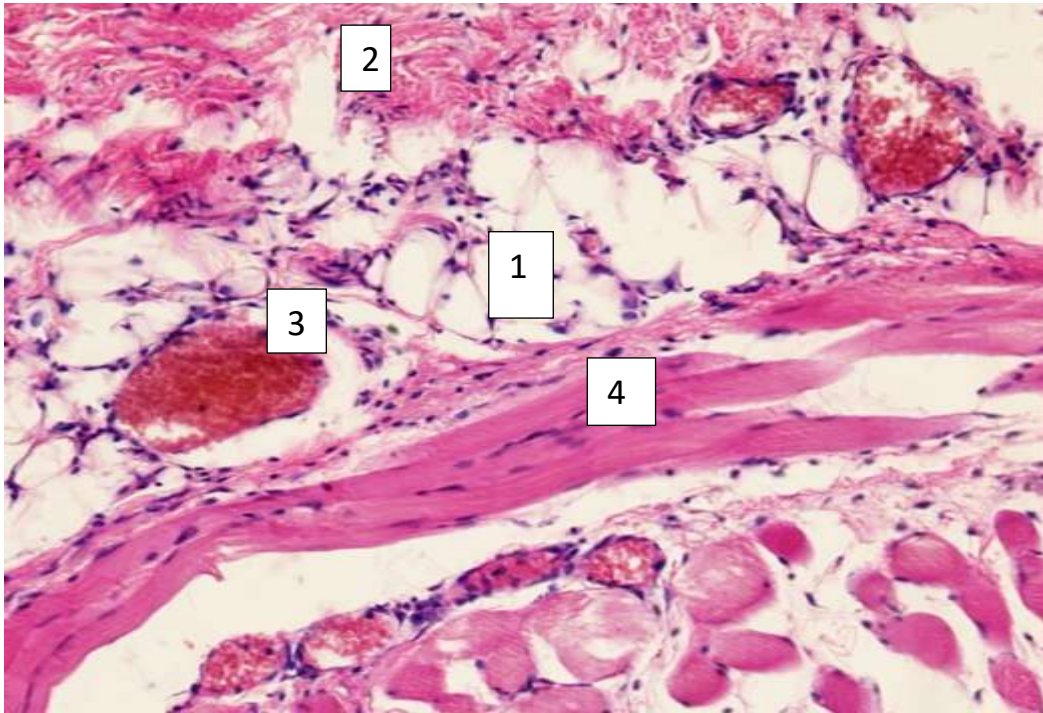


Рис. 3.12. Патологічні зміни шкіри хвоста у кастрованих щурів-самок на тлі ГХТ. Помірний набряк гіподерми з розсіяною лімфогістіоцитарною інфільтрацією (1); незначна контракція колагенових волокон дерми (2); дилатовані повнокровні судини зі складжйованими еритроцитами (3); котракція та дистрофічні зміни м'язових волокон (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

Подібні зміни на тлі ГХТ визначали і в шкірі хвоста кастрованих щурів-самців, проте дистрофічні зміни були більш виразними (рис 3.13, 3.14).

Мали місце більш значні порушення мікрогемоциркуляції у вигляді еритростазу, лейкостазу, помірного периваскулярного набряку. Тромбоз судин мікроциркуляторного русла також не визначався. Епідерміс був нерівномірної товщини за рахунок дистрофічних змін епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав досить виражені сосочки за рахунок помірних контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини дерми. Додатки шкіри були деформовані.

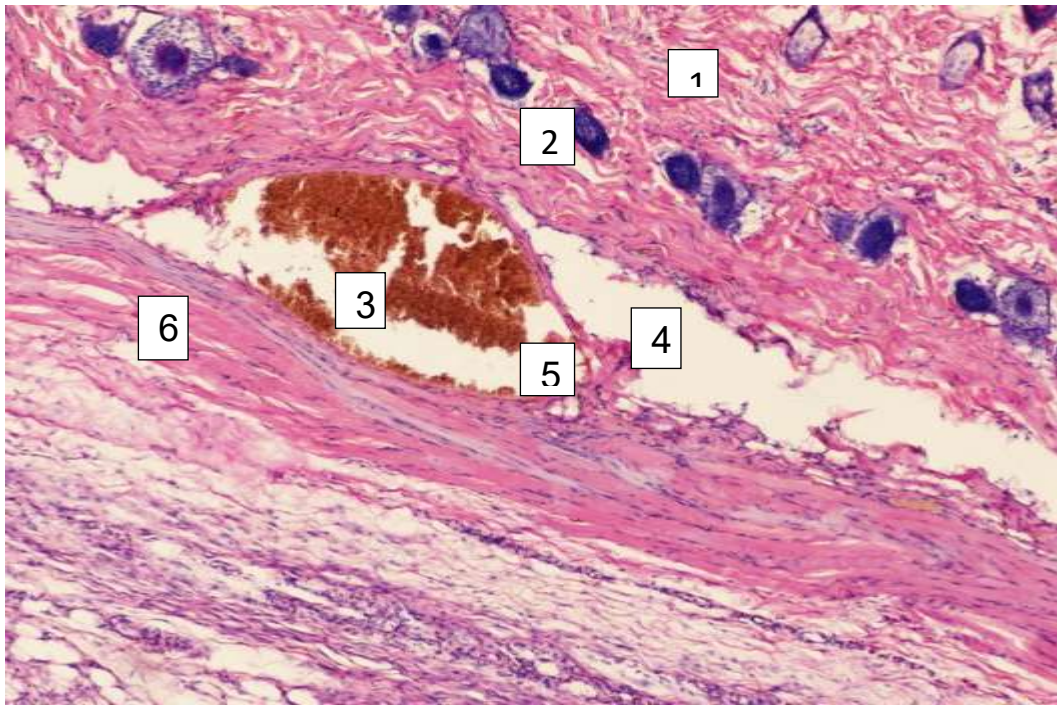


Рис. 3.13. Патологічні зміни шкіри хвоста у кастрованих щурів-самців на тлі ГХТ. Помірний набряк дерми з вогнищевою контракцією колагенових волокон (1); деформовані волосяні фолікули (2); дилатована тромбована вена з відсутньою ендотеліальною устілкою (3); виражений периваскулярний набряк (4) та розшарування (5) венозної стінки; котракція та дистрофічні зміни м'язових волокон (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

У дермі визначалась вогнищева периваскулярна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Судини дерми та гіподерми були розширені, вистелені витонченим ендотелієм, з еритростазами, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. Зазначені патоморфологічні зміни свідчать про більш значний вплив ішемічного чинника при дії ХТ на шкіру кастрованих щурів самців. М'язові волокна розташовувалися пухко через набряк, визначались помірні контракційні зміни міоцитів.

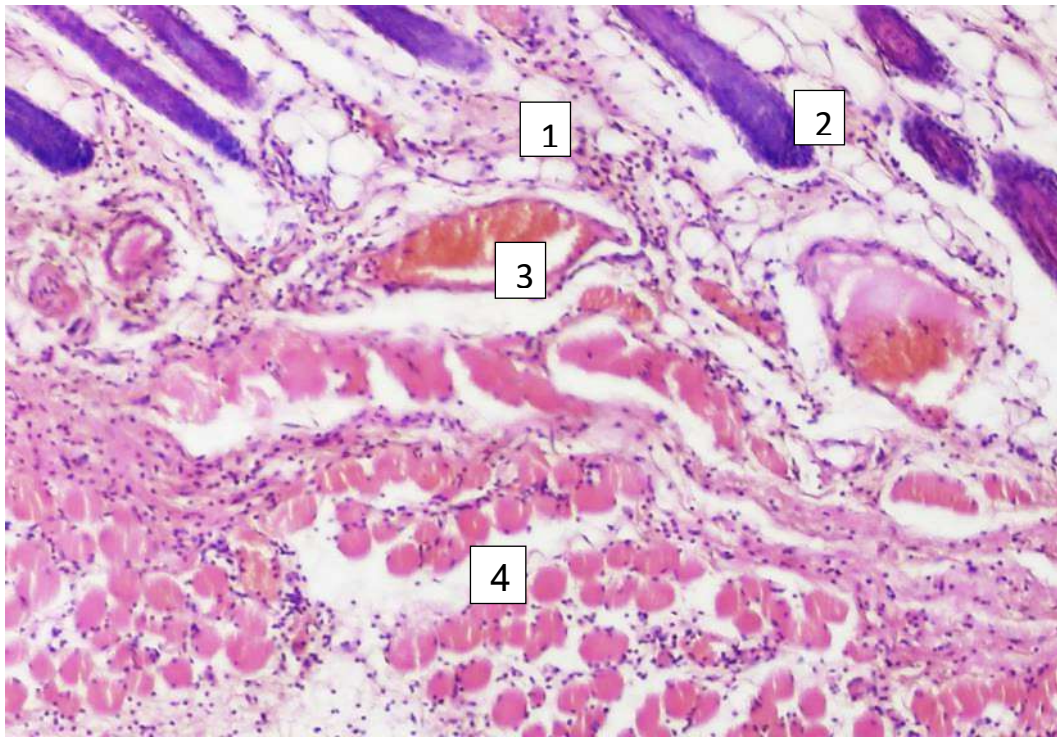


Рис. 3.14. Патологічні зміни шкіри хвоста у кастрованих шурів-самців на тлі ГХТ. Помірний набряк гіподерми з розсіяною лімфогістіоцитарною інфільтрацією (1); деформовані волосяні фолікули (2); дилатовані повнокровні судини зі складжйованими еритроцитами (3); котракція та дистрофічні зміни м'язових волокон (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Таким чином, зазначені патоморфологічні зміни свідчать, що вплив холододового чинника на стан шкіри у тварин відрізняється статевим диморфізмом з переважанням негативних реакцій у тварин чоловічої статі, в той час як у самок патологічні зміни були значно меншими. Отримані результати співставні із даними попередніх досліджень, в яких продемонстровано більшу здатність самок тварин опиратись негативному впливу екстремально низьких температур. На нашу думку, причиною цього є вплив гонадальних гормонів, а саме – захисним ефектам естрогенів, які реалізуються через негеномні механізми (антиоксидантний, протиішемічний, вазоактивний).

Висновок до розділу 3

1. За умов гострої холодової травми виживаність тварин різної статі була різною: самці статевозрілих мишей були більш вразливими до впливу холодового фактора, ніж самки. Середній показник тривалості життя тварин чоловічої статі був на 38,1 % меншим, аніж жіночої ($p < 0,05$). Гонадектомія самців підвищувала, а гонадектомія самок – навпаки, зменшувала тривалість життя тварин в умовах ГЗО на 27,5 %, а кастрація самок – зменшувала його на 10,5 % ($p < 0,05$).

2. За ступенем виразності судинних порушень за ГХТ органи-мішені можна розташувати в такому порядку задні кінцівки > вушні раковини > хвіст. У самців коефіцієнт мікроциркуляції нижніх кінцівок, вушних раковин та хвоста зменшились на 72,2, 55,3 та 35,1 %, порівняно з таким показником до ГХТ ($p < 0,05$), натомість у самок – на 66,5, 44,3 та 18,6 % ($p < 0,05$). Середньооефективна концентрація ацетилхоліну у самок з ГХТ на 16,6 % ($p < 0,05$) перевищує значення відповідного контролю, тоді як аналогічний показник самців перевищує значення відповідного контролю на 28,2 % ($p < 0,05$). У кастрованих самців показник мікроциркуляції хвоста, задніх кінцівок та вушної раковини на тлі ГХТ знижувався на 25,4, 66,4 та 40,7 %, відповідно ($p < 0,05$), натомість у тварин протилежної статі – на 32,5, 78,8 та 47,4 %, відповідно ($p < 0,05$).

3. 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. Молекулярні механізми судинних порушень за ГХТ характеризуються розвитком розвитком ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення. Ці порушення були більш вираженими у самців тварин. Кастрація тварин змінювала вектор статевих відмінностей зміни гемостазіологічних та біохімічних показників за ГХТ.

4. Патоморфологічні зміни свідчать, що вплив холодowego чинника на стан шкіри у тварин характеризується значними дистрофічними змінами в епідермісі, дермі та нервових волокнах, вираженим набряком та розшаруванням дерми, дилатацією та мікротромбозами судин, порушенням структури судинного ендотелію. Дані зміни переважали у тварин чоловічої статі, в той час як у самок патологічні зміни були значно меншими. Ступінь виразності морфологічних змін у кастрованих тварин викликає зміну вектора статевих відмінностей в пошкоджуючій дії ГХТ.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [219, 220, 226, 232, 233].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАХИСНОЇ ДІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ У
ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ХОЛОДОВОЇ ТРАВМИ

Як свідчать дані літератури, на сьогоднішній день все більше уваги науковців різних спеціальностей та клініцистів привертає до себе аміноцукор глюкозамін. Широкий арсенал його фармакологічних ефектів зумовлений антиоксидантними, антиінфламаторними, мембраностабілізуючими, антигіпоксичними, антиішемічними, та іншими видами активності, що дозволяє пояснити його мультитаргетну поліорганну протективну дію [155, 156, 188, 211].

На окрему увагу заслуговує його здатність захищати організм від негативної дії холоду (фригопротекторна активність). Вона доведена як в експерименті, так і в клінічних умовах, і забезпечується комплексним механізмом його дії, який цілком співставляється із патогенезом загальної холодової травми та локальних відморожень [9].

Отримані в попередньому розділі дані щодо існування статевого диморфізму у стійкості організму до дії холодового чинника, який є наслідком впливу статевих гормонів, зумовив необхідність дослідити статеву специфічність захисної дії глюкозаміну за гострого загального охолодження в експерименті, що і стало метою даного розділу дисертаційного дослідження. Для вирішення поставленої мети нами було досліджено вплив глюкозаміну гідрохлориду на показники виживаності, периферичної мікроциркуляції вушних раковин, задніх кінцівок та хвоста, скоротливості хвостової артерії, параметри гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів, а також біохімічні маркери ендотеліальної дисфункції, запалення й оксидативного стресу у тварин обох статей на тлі експериментального гострого загального охолодження.

4.1 Вплив глюкозаміну гідрохлориду на виживаність статевозрілих та кастрованих мишей за умов ГХТ

В цьому підрозділі було оцінено статеву детермінацію захисної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострого загального охолодження (ГХТ) у статевозрілих та кастрованих мишей.

Відповідно до мети, експериментальні тварини були поділені наступним чином: 1 група – самці та самки мишей без змін гормонального статусу, яким було відтворено гостру холодову травму (контроль); 2 група – статевозрілі тварини обох статей, яким за 60 хвилин перед моделюванням ГХТ внутрішньошлунково вводили глюкозамін гідрохлорид (50 мг/кг) (Sigma, USA); 3 група – кастровані тварини обох статей, яким профілактично вводили глюкозамін гідрохлорид у вищезазначеному режимі. Контрольні самки та самці мишей замість досліджуваної речовини отримували еквівалентні кількості розчинника.

Результати показали, що у статевозрілих мишей попереднє введення глюкозаміну гідрохлориду збільшувало тривалість життя тварин обох статей, однак його дія була неоднаковою щодо самців і самок: показник тривалості життя в умовах ГХТ у самців статистично вірогідно збільшувався на 38,6 %, тоді як у самок – лише близько 10 % порівняно із тваринами з групи «ГХТ без корекції». При цьому ступінь виразності статевого диморфізму зменшилась в 2,6 рази, і хоча тривалість життя самок була дещо більшою за самців, ця різниця не сягала статистично вірогідних значень (табл. 4.1).

Результати, що наведені в розділі 3.2, показали, що кастрація тварин суттєво відбувається на спрямованості статевих відмінностей в переносимості холодового чинника: самці після орхідектомії стають більш стійкими до дії ГХТ, тоді як самки – навпаки, виживають значно гірше. За цих умов експерименту профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду практично в рівній мірі подовжувало витривалість щодо екстремально низьких температур у кастрованих тварин: у самців показник тривалості життя подовжувався на

22,12 %, і у самок – на 29,53 %. Відмінності абсолютного показника за цих умов експерименту між самцями і самками не перевершували значень статистичної похибки.

Таблиця 4.1

Тривалість життя самців та самок мишей на моделі гострої холодової травми та умов в/шл введення глюкозаміну гідрохлориду ($M \pm m$, $n=7$)

Експериментальні групи	Самці, $n=7$		Самки, $n=7$	
	Час життя, хв.	% змін до показника контролю	Час життя, хв.	% змін до показника контролю
ГХТ без корекції				
Контроль (Статевозрілі тварини)	46,17±0,95	-	63,76±2,97*	-
ГХТ + глюкозаміну гідрохлорид, 50 мг/кг				
Статевозрілі тварин	63,98±2,05#	+38,6%	70,00±2,56	+9,78%
Кастрація	71,89±3,70#	+22,12%	73,96±3,86#	+29,53%

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) між самцями і самками;
2. # – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) відносно контролю у тварин відповідної статі.

Отримані нами результати свідчать, що витривалість організму до дії холоду в значній мірі залежить від впливу статевих гормонів. Естрадіол захищає організм самок від обмороження, тоді як тестостерон такими властивостями не володіє. Згідно результатів, наведених в розділі 2, гонадектомія самок викликала різке зниження вмісту естрадіолу (в 9,06 рази), що супроводжувалось зниженням часу життя за ГХТ, тоді як гонадектомія самців, яка викликала падіння вмісту тестостерону падав в 15,2 рази, навпаки асоціювався із збільшенням тривалості життя в умовах експерименту.

Введення глюкозаміну гідрохлориду не сприяє суттєвим коливанням вмісту гонадальних гормонів ні у самців, ні у самок. Так, після його 7-денного введення самкам рівень естрадіолу в сироватці крові становив $0,158 \pm 0,014$ нмоль/л, що демонструє його невірогідне зростання (на 8,96 %) відносно рівня у статевозрілих тварин контрольної групи. Введення цього препарату самцям практично не змінювало рівень тестостерону (його вміст становив $9,64 \pm 0,77$ нмоль/л проти $9,75 \pm 0,84$ нмоль/л у тварин групи контролю).

Тобто, глюкозаміну гідрохлорид подовжував тривалість життя мишей за гострого загального охолодження у тварин обох статей, однак його захисна дія була більш виразною у самців. Статеві відмінності у виживаності тварин за ГХТ на тлі дії глюкозаміну гідрохлориду нівелювались.

4.2 Вплив глюкозаміну гідрохлориду на мікроциркуляцію різних ділянок тіла (хвоста, задніх кінцівок та вушних раковин) самців та самок щурів за умов гострої холодової травми

Оскільки відомо, що найбільше вразливими до впливу холодового чинника є відкриті ділянки тіла та певні органи-мішені (наприклад, кінцівки) як у тварин, так і у людей, то на наступному етапі було встановлено наявність органопротекторної дії глюкозаміну у тварин різної статі за показником гемоперфузії вушних раковин хвоста та нижніх кінцівок. Препарат вводили в профілактичному режимі – протягом 3 днів до моделювання ГЗО. Визначення показника мікроциркуляції проводили через 30 хвилин після ГХТ.

Результати, представлені в таблиці 4.2. та на рис. 4.1-4.3 показали, що організм самців щурів в більшій мірі потерпає від шкідливого впливу холодового чинника, аніж самок.

При цьому введення глюкозаміну гідрохлориду протидіяло падінню показника мікроциркуляції органів у особин обох статей, частково повертаючи його до рівня контрольних тварин, проте повного захисту не спостерігалось.

**Зміни показника мікроциркуляції органів-мішеней на тлі ГХТ та
профілактичного введення глюкозаміну гідрохлориду
($M \pm m$, $n=7$)**

Експериментальні групи	Гостра холодова травма		Гостра холодова травма + глюкозаміну гідрохлорид	
	Самці	Самки	Самці	Самки
Вушна раковина	-55,2 %	-44,3 %	+40,1 %	+6,50 %
Задні кінцівки	-78,2 %	-66,6 %	+60,4 %	+36,2 %
Хвіст	-35,1 %	-18,6 %	+30,9 %	+20,7 %

Примітки: 1 – відсоток змін відносно групи щурів до ГХТ (контроль);

2 – відсоток змін відносно групи тварин з ГХТ без корекції.

Так, середній коефіцієнт мікроциркуляції вушних раковин самців щурів після ГХТ без лікування становив $169,3 \pm 2,80$ у.о., тоді як на тлі введення глюкозаміну – він був на 40,1 % більшим, і становив $237,15 \pm 10,44$ у.о. ($p < 0,05$). В той же час у самок групи ГХТ без лікування показник мікроциркуляції статистично вірогідно не відрізнявся від такого в групі лікованих тварин ($358,0 \pm 16,7$ у.о. проти $381,30 \pm 9,56$ у.о, $p > 0,05$).

Виявилось, що мікроциркуляція задніх кінцівок у тварин обох статей в найбільшій мірі вражається за екстремально низьких температур: показник мікроциркуляції знижувався з $579,9 \pm 13,1$ до $126,36 \pm 7,31$ у.о. у самців та дещо менше у самок (з $667,1 \pm 7,19$ до $22333 \pm 6,46$ у.о. ($p < 0,05$)). На цьому фоні захисна дія глюкозаміну гідрохлориду була значно виражена у самців щурів (коефіцієнт мікроциркуляції вірогідно зріс на 60,4 %), тоді як у самок цей аміноцукор збільшував кровопостачання лише на 36,2 % (показник сягнув рівня $304,19 \pm 10,26$ у.о.), однак в абсолютних значеннях кровопостачання цього органу у самок переважало показник самців.

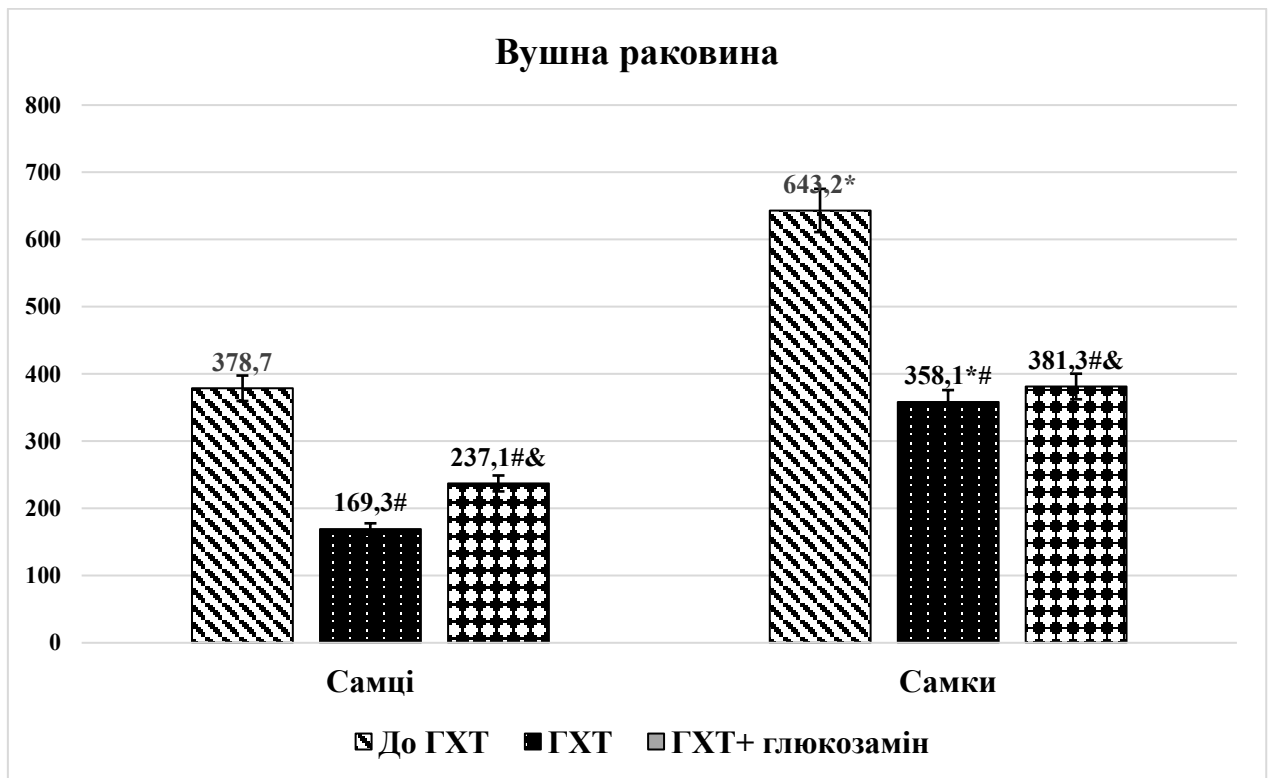


Рис. 4.1. Зміни мікроциркуляції **вушних раковин** у самців та самок щурів після гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=7$). Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Виявилось, що мікроциркуляція задніх кінцівок у тварин обох статей в найбільшій мірі вражається за екстремально низьких температур: показник мікроциркуляції знижувався з $579,9 \pm 13,1$ до $126,36 \pm 7,31$ у.о. у самців та дещо менше у самок (з $667,1 \pm 7,19$ до $223,3 \pm 6,46$ у.о. ($p < 0,05$)). На цьому фоні захисна дія глюкозаміну гідрохлориду була значно виражена у самців щурів (коефіцієнт мікроциркуляції вірогідно зріс на 60,4 %), тоді як у самок цей аміноцукор збільшував кровопостачання лише на 36,2 % (показник сягнув рівня $304,19 \pm 10,26$ у.о.), однак в абсолютних значеннях кровопостачання цього органу у самок переважало показник самців.

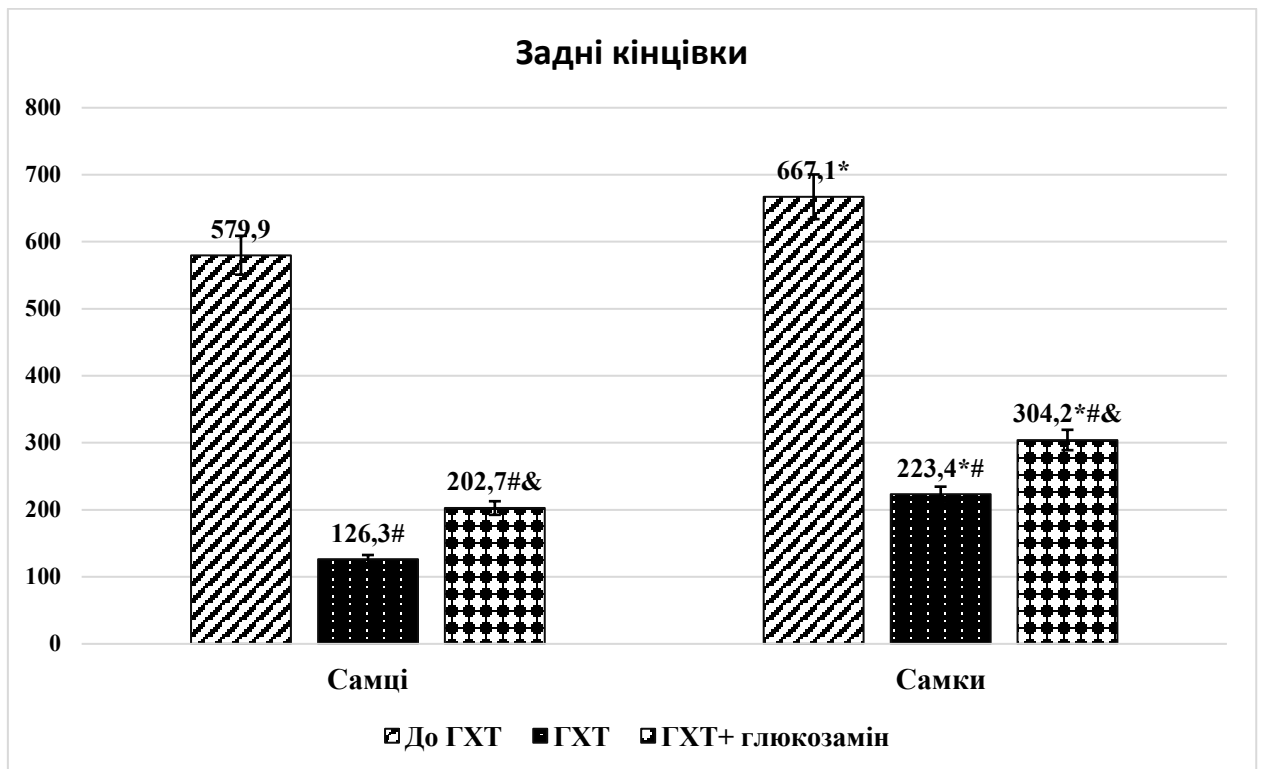


Рис. 4.2. Зміни мікроциркуляції задніх кінцівок у самців та самок щурів після гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=7$). Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Аналогічна закономірність виявлена і при дослідженні показників мікроциркуляції верхньої третини хвоста самок та самців щурів і їх змін за гострого загального охолодження та на тлі захисної дії глюкозаміну гідрохлориду. Так, 2-х годинне перебування самців при -18°C викликало зниження цього показника на 35,1 % (до $219,8 \pm 4,21$ у.о.) порівняно з контролем ($p < 0,05$), а у самок цей показник знижувався менше – на 18,6 % (і сягав значення $254,3 \pm 7,87$ у.о. Глюкозаміну гідрохлорид підвищував показник мікроциркуляції цього органу на 30,9 та 20,7 % у самців та самок відповідно (а саме у самців до $287,81 \pm 4,13$ у.о ($p < 0,05$), а у самок до $306,85 \pm 4,74$ у.о ($p < 0,05$)).

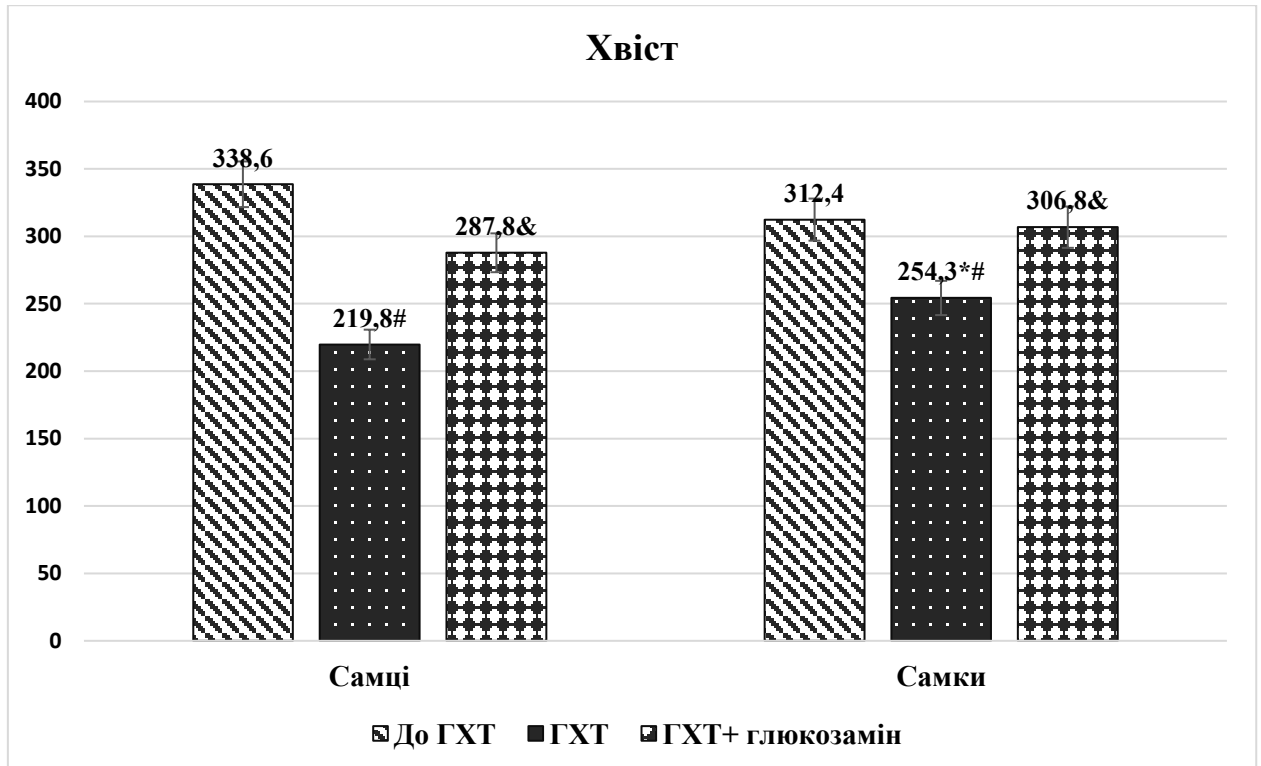


Рис. 4.3. Зміни мікроциркуляції **хвоста** у самців та самок щурів після гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=7$). Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; & - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Таким чином, проведені дослідження засвідчили, що використання глюкозаміну гідрохлориду за експериментального гострого загального охолодження супроводжується статистично вірогідним покращенням показників периферичної мікроциркуляції вушних раковин, задніх кінцівок та хвоста у тварин обох статей порівняно з нелікованими тваринами, причому у самців щурів цей ефект аміноцукру був вищим ніж у самок.

4.3 Дослідження впливу глюкозаміну гідрохлориду на скоротливість хвостових артерій самців та самок щурів за експериментальної ГХТ

Застосування глюкозаміну гідрохлориду виявляє ендотеліопротекторну дію у самців щурів на тлі ГХТ (рис. 4.4, 4.5).

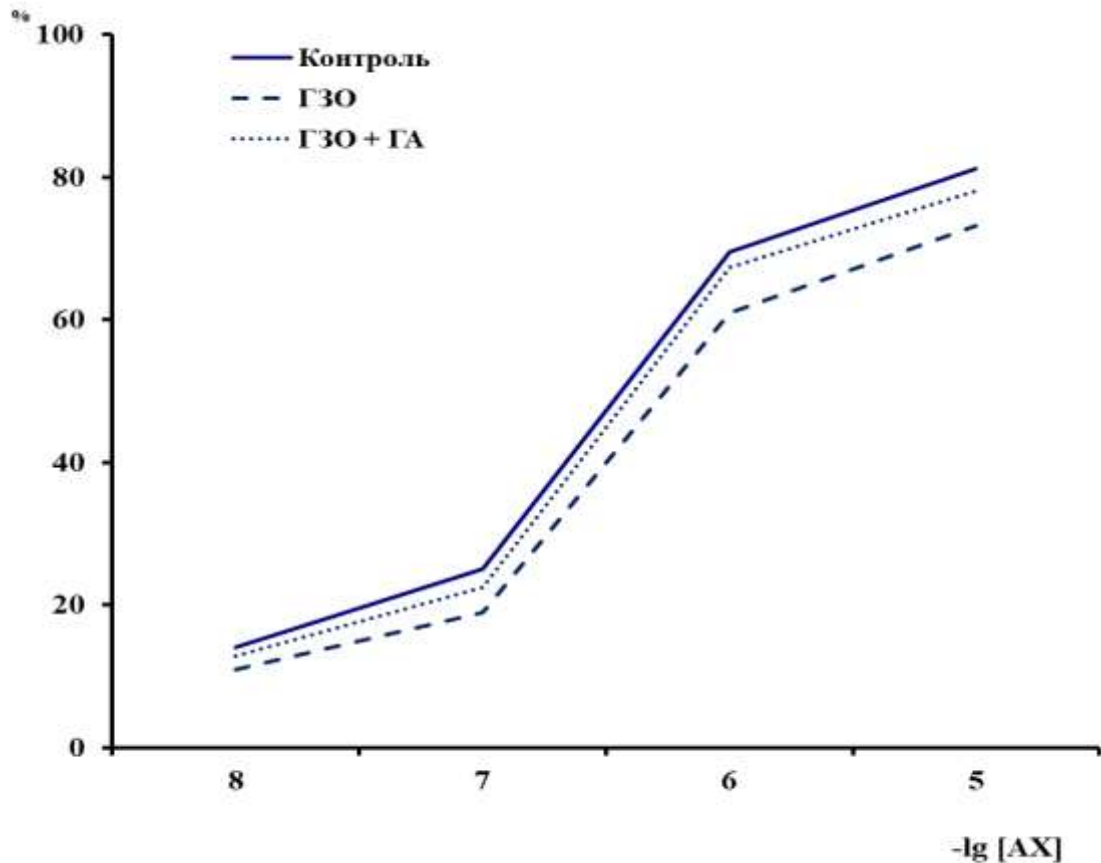


Рис. 4.4. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на дозозалежність ацетилхолін-індукованого розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії самців щурів за ГХТ. По осі абсцис – від'ємний десятковий логарифм концентрації ацетилхоліну (М) у перфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів аорти під впливом наростаючих концентрацій ацетилхоліну. За 100 % прийнятий рівень ацетилхолін-індукованого розслаблення фрагментів хвостової артерії щурів, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-ініційованого передскорочення.

Виявилось, що у групі самців щурів з ГХТ на тлі фармакотерапії глюкозаміном гідрохлоридом відмічається зміщення кривої «доза-ефект» ліворуч: в діапазоні концентрацій ацетилхоліну від 0,01 до 10 мкмоль/л розслаблення хвостової артерії коливалося в межах 12,8-78 % проти 10,9-73,2 % у нелікованих тварин. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самців з ГХТ на тлі лікування становить $0,219 \pm 0,007$ мкмоль/л і за середнім показником на 18,5 % ($p < 0,05$) поступається значенню нелікованих самців (середнє значення EC_{50} ацетилхоліну становить $0,259 \pm 0,012$ мкмоль/л).

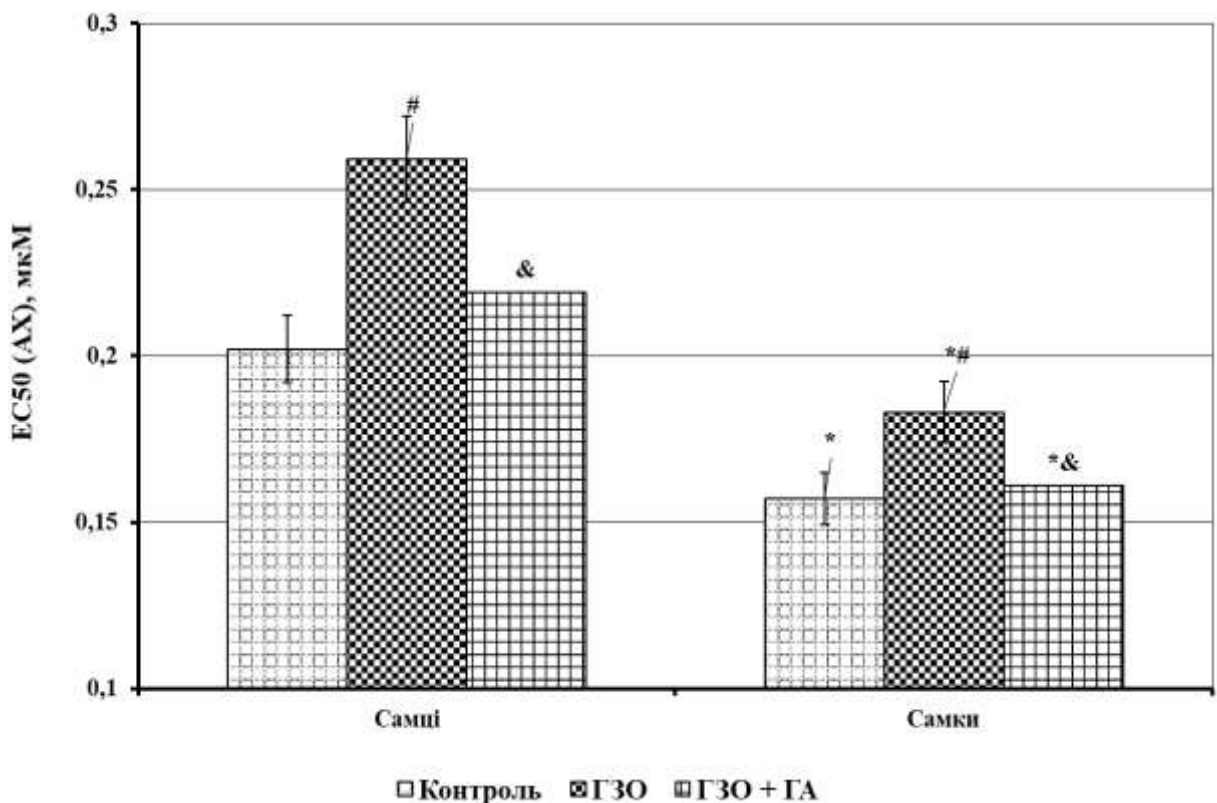


Рис. 4.5. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на середньоефективну концентрацію ацетилхоліну ($EC_{50}(AX)$) у хвостовій артерії самців та самок щурів за ГХТ. Примітки: 1. * - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність між самцями та самками щурів у межах групи; 2. # - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність відносно контрольної групи; 3. & - статистично достовірна ($p < 0,05$) відмінність відносно тварин з ГХТ

Введення глюкозаміну гідрохлориду самкам тварин з гострою холодовою травмою також викликає зменшення виразності ендотеліальної дисфункції, але за ефективністю поступається самцям (рис. 4.5, 4.6).

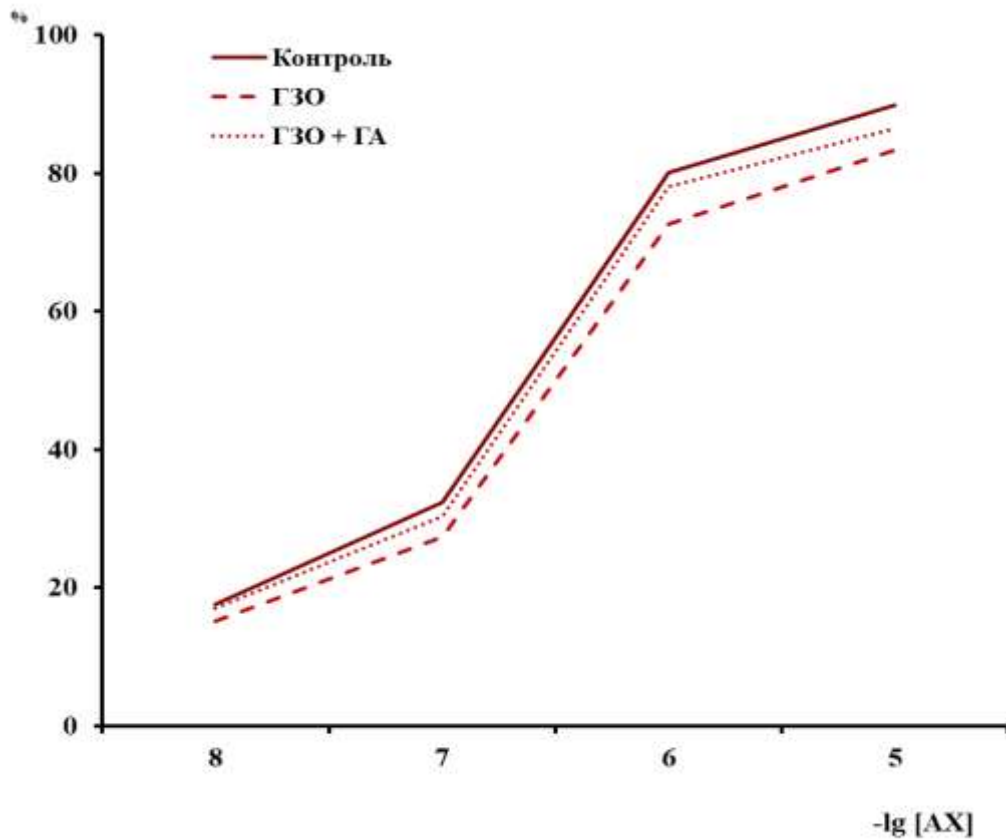


Рис. 4.6. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на дозозалежність ацетилхолін-індукованого розслаблення кільцевих фрагментів хвостової артерії самок щурів за ГХТ. По осі абсцис – від'ємний десятковий логарифм концентрації ацетилхоліну (M) у перфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів аорти під впливом наростаючих концентрацій ацетилхоліну. За 100% прийнятий рівень ацетилхолін-індукованого розслаблення фрагментів хвостової артерії щурів, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-ініційованого передскорочення.

Показано, що у групі самок тварин з ГХТ, які отримували фармакотерапію глюкозаміном гідрохлоридом, реєструється зміщення кривої кривої «доза-ефект» ліворуч: за концентрацій ацетилхоліну від 0,01 до 10

мкмоль/л розслаблення хвостової артерії коливалося в діапазоні 17,1-86,4 %, а у нелікованих тварин ацетилхолін в наведених концентраціях виклав менш виразну релаксацію – 15,2-83,3 %. Середньоєфективна концентрація ацетилхоліну у самок з ГХТ на тлі лікування становить $0,161 \pm 0,006$ мкмоль/л і за середнім показником на 12,0 % ($p < 0,05$) поступається значенню нелікованих самок тварин (середнє значення EC_{50} ацетилхоліну становить $0,183 \pm 0,008$ мкмоль/л).

Проведені дослідження засвідчили, що на тлі гострої холодової травми у самців та самок щурів використання в якості коректора глюкозаміну гідрохлориду супроводжується зменшенням виразності дисфункції ендотелію хвостової артерії. Ефективність ендотеліопротекторної дії використаного коректора різниця залежно від статі: у самців вона є вищою порівняно з самками щурів.

4.4 Статеві особливості впливу глюкозаміну гідрохлориду на показники гемокоагуляції та агрегації тромбоцитів у щурів за умов експериментальної ГХТ

Профілактичне введення глюкозаміну протидіяло порушенням в системі внутрішнього та зовнішнього шляхів зсідання, спричинених ГХТ, у тварин обох статей, при чому в більшій мірі – у самців щурів (рис. 4.7). Так, на тлі введення аміноцукру показник ПЧ вірогідно зменшувався у самців на 50,4 % ($p < 0,05$), а у самок – на 45,3 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. Поряд з цим реєструвалось достовірне зростання показників АЧТЧ та ТЧ відповідно на 24,2 та 24,8 % у самців та на 14,4 та 14,5 % у самок відносно тварин, які не отримували лікування. Статистично вірогідних відмінностей між самцями та самками щурів на тлі введення глюкозаміну гідрохлориду не було відмічено.

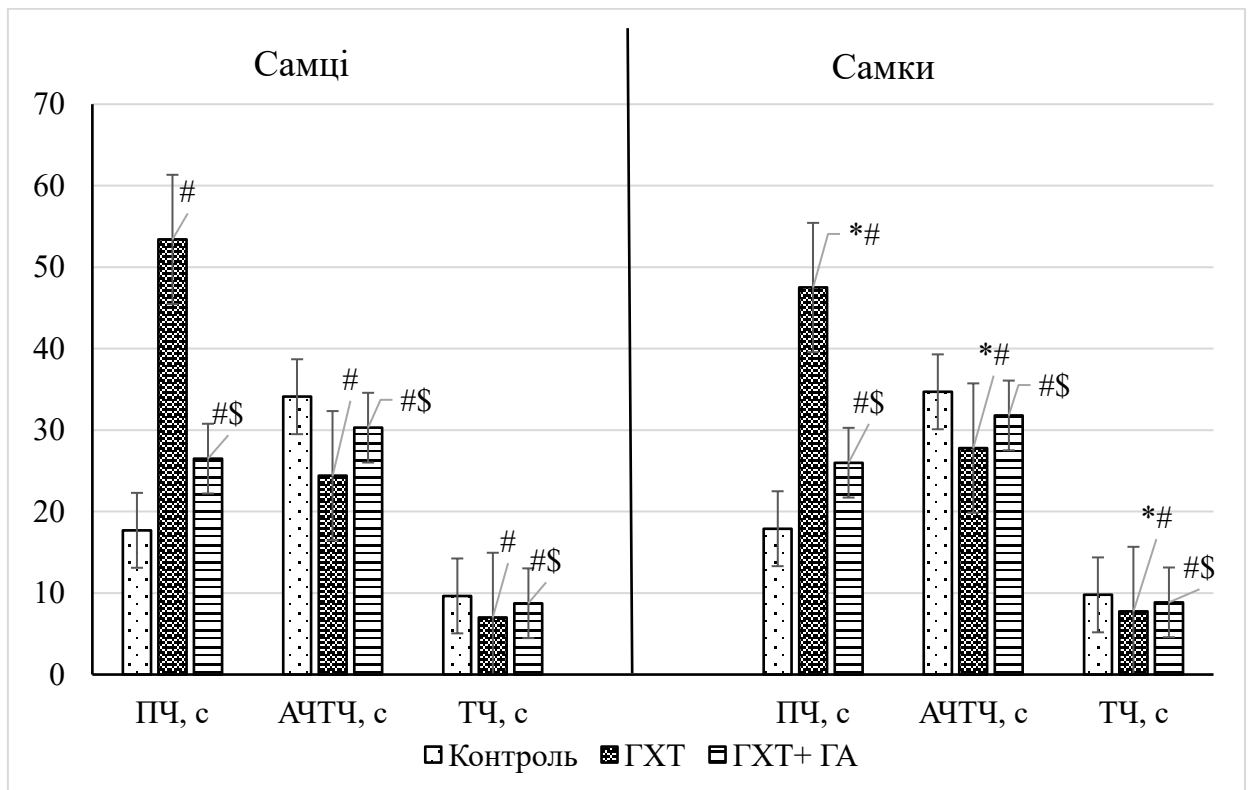


Рис. 4.7. Параметри зовнішнього та внутрішнього шляхів зсідання крові після гострої холодової травми та корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$). Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; \$ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Застосування глюкозаміну перешкоджало індукованим ГХТ змінами в антикоагулянтній ланці гемостазу та системі фібринолізу у тварин обох статей, причому у самців вказаний ефект був більшим ніж у самок (рис. 4.8). За умов введення глюкозаміну гідрохлориду активність протеїну С вірогідно зростала у самців на 15,6 % ($p < 0,05$), а у самок – на 11,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. Разом з цим відмічалось вірогідне зменшення вмісту ПАІ-1 в сироватці крові у самців на 29,6 % ($p < 0,05$), а у самок – на 22,0 % ($p < 0,05$) порівняно з щурами, які не отримували лікування. За цих умов вірогідних відмінностей між самцями та самками щурів на тлі введення глюкозаміну гідрохлориду нами не було зафіксовано.

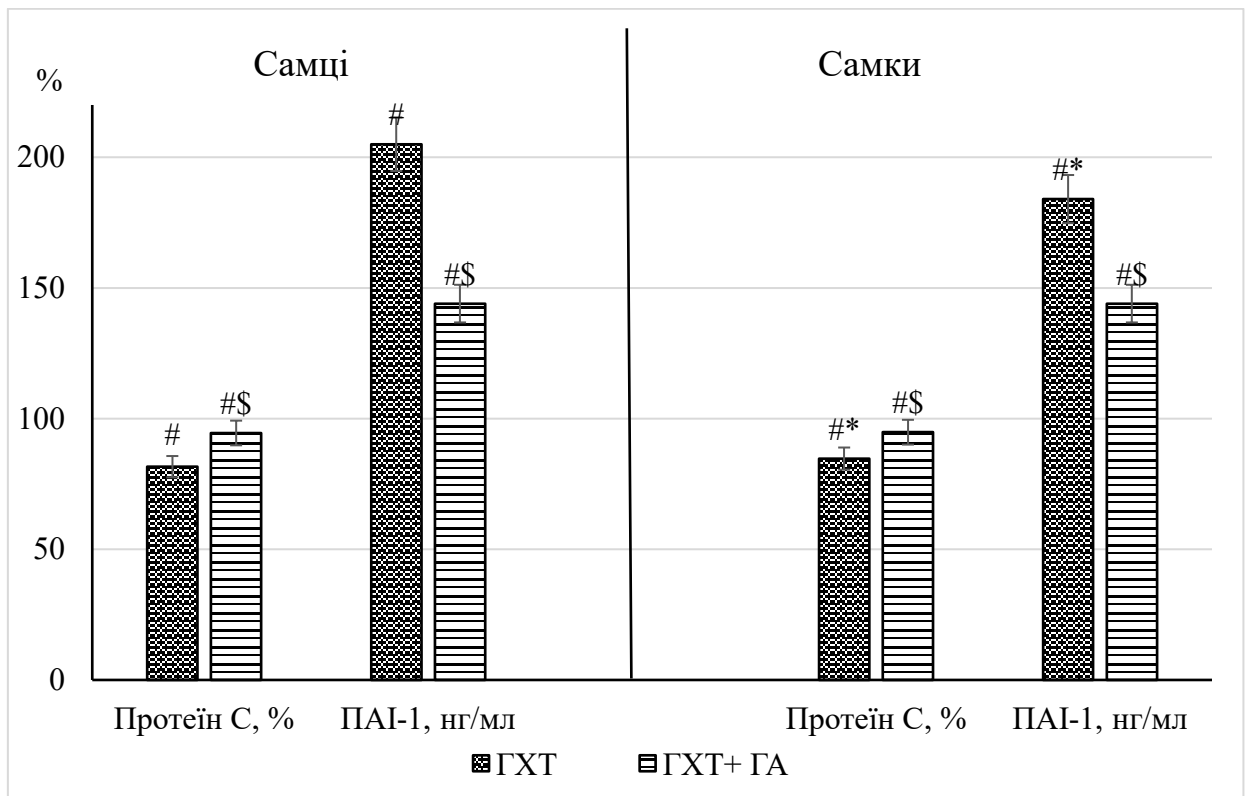


Рис. 4.8. Зміни параметрів антикоагулянтної та фібринолітичної систем крові після гострої холодової травми та корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$). Примітки: за 100 % - прийнято величину показників у контрольній групі відповідно самців та самок; * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; \$ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Результати дослідження впливу глюкозаміну на стан системи агрегації тромбоцитів за ГХТ показав, що застосована фармакокорекція має чітко виражену нормалізуючу дію на показники як спонтанної, так і АДФ-індукованої АТ (рис. 4.9).

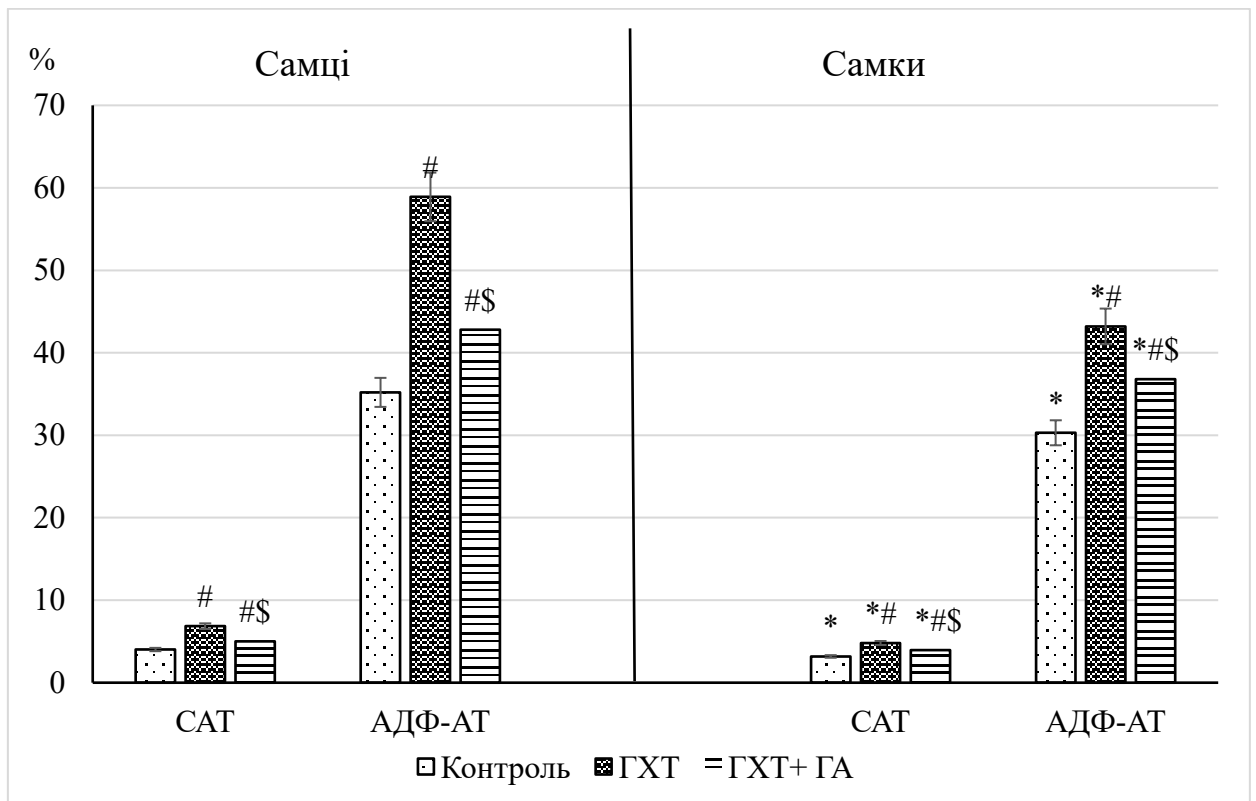


Рис. 4.9. Параметри агрегації тромбоцитів після гострої холодової травми та корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$). Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; \$ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Антиагрегантна дія препарату проявлялась у тварин обох статей, хоча у самців її виразність була вищою. На тлі попереднього введення глюкозаміну за ГХТ показники спонтанної та АДФ-індукованої АТ були вірогідно меншими у самців відповідно на 26,9 та 27,3 % ($p < 0,05$), а у самок – на 17,9 та 14,8 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Паттерн статевої різниці між тваринами (переважання процесів агрегації у самців) за даних умов експерименту зберігався, хоча ця різниця не сягала статистично вірогідних значень.

4.5 Вплив глюкозаміну гідрохлориду на продукцію вазоактивних молекул у щурів різної статі за умов ГХТ

Лікувально-профілактичне введення глюкозаміну викликало суттєве зменшення дисбалансу в системі вазоконстриктори-вазодилататори, викликане дією холодового чинника у тварин обох статей, хоча у самців щурів вказаний ефект був вищим ніж у самок (рис. 4.10).

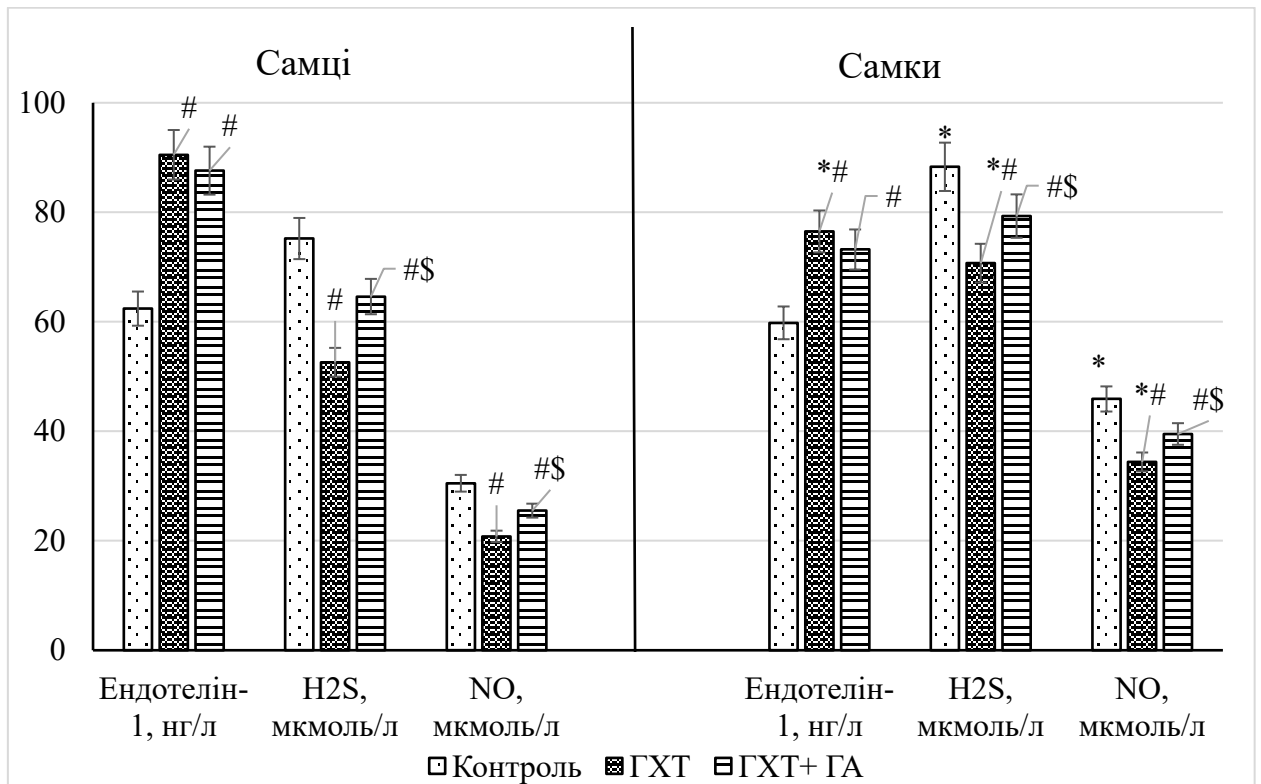


Рис. 4.10. Вміст вазоактивних медіаторів в сироватці крові після гострої холодової травми та корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$).
Примітки: * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) між самцями та самками; # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контрольних тварин відповідної статі; \$ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно тварин відповідної статі без лікування.

Застосована фармакотерапія спричиняла зменшення дефіциту вазодилаторних молекул в сироватці крові: відмічалось вірогідне зростання рівнів H₂S та метаболітів NO у самців відповідно на 22,8 та 22,6 % ($p < 0,05$), а

у самок – на 12,2 та 14,8 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Натомість, рівень вазоконстриктора ендотеліну-1 в сироватці крові вірогідно не змінювався на тлі застосованого лікування. За цих умов вірогідна різниця сироваткових рівнів досліджуваних вазоактивних молекул в сироватці крові самців та самок щурів зберігалась.

Результати дослідження сироваткових маркерів системного запалення та адгезії судинних клітин за ГХТ і на тлі фармакотерапії наведені на рис. 4.11.

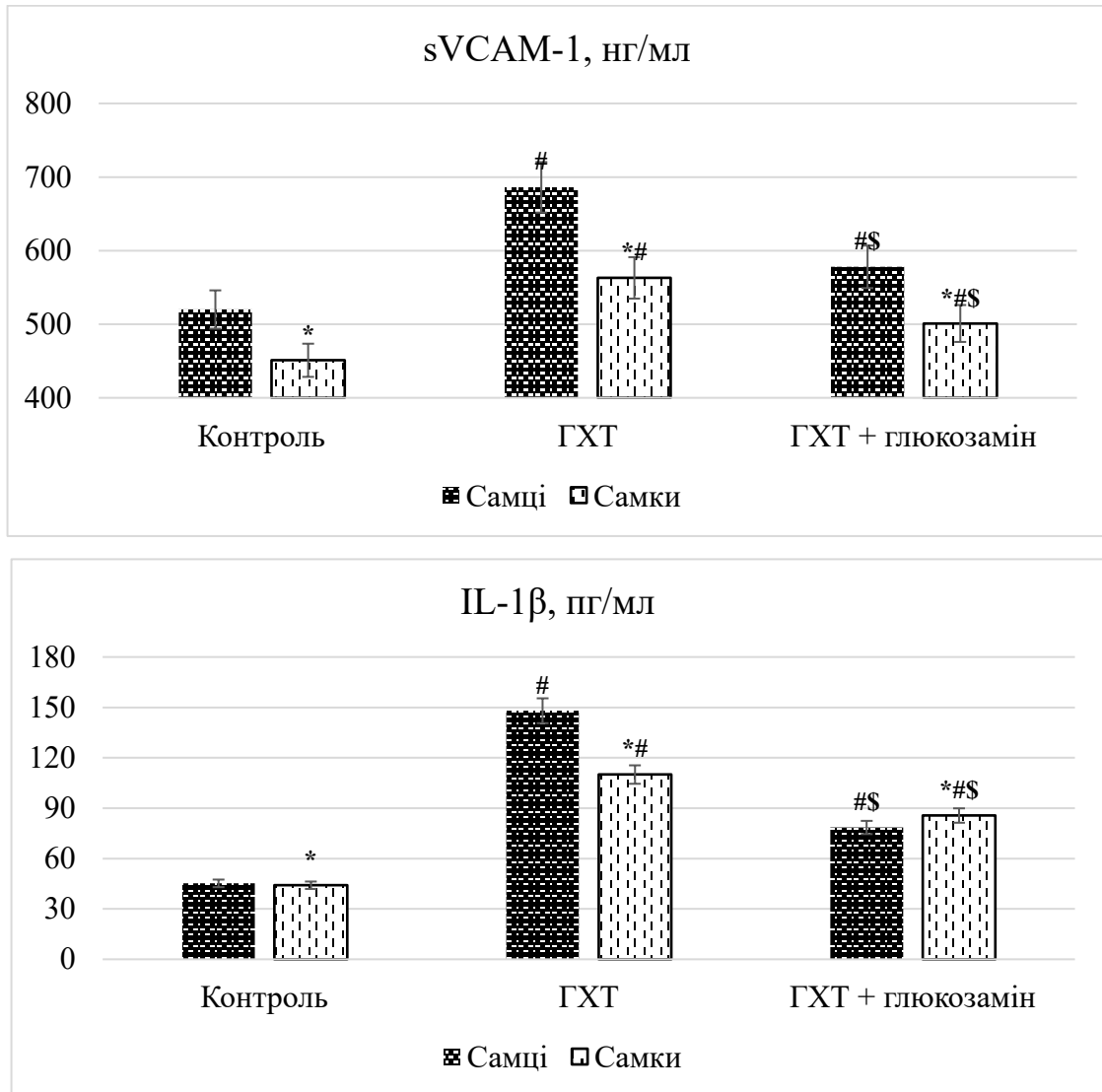


Рис. 4.11. Вміст маркера запалення та молекул адгезії судинних клітин в сироватці крові самців та самок щурів за ГХТ та на тлі корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$) Примітки: 1. * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи; 2. # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи; 3. \$ - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГХТ

Використання глюкозаміну гідрохлориду за ГХТ характеризується протизапальною активністю і супроводжується зменшення адгезії судинних клітин, причому у самців цей ефект препарату є вищим ніж у самок. Встановлено, що у групі тварин «ГХТ + глюкозамін» реєструється статистично достовірне зменшення сироваткових рівнів IL-1 β та sVCAM-1 у самців на 47,0 та 15,7 % ($p < 0,05$), а у самок – на 22,2 та 11,1 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами.

Результати дослідження показників оксидативного стресу за активностями про- та антиоксидантних ензимів сироватки крові на тлі ГХТ і фармакокорекції наведені на рис. 4.12. Встановлено, що профілактично-лікувальне введення глюкозаміну суттєво зменшувало ініційоване ГХТ ферментативне накопичення супероксидного-аніон радикалу, каталізоване НАДФН-оксидазою. Так, порівняно з нелікованими тваринами, у щурів групи «ГХТ + глюкозамін» середня величина активності прооксидантного ензиму НАДФ-оксидази в сироватці крові була вірогідно меншою у самців та самок відповідно на 20,4 та 13,7 % ($p < 0,05$).

Застосування глюкозаміну гідрохлориду на тлі ГХТ також спричиняє посилення утилізації супероксидного-аніон радикалу за участі ферменту СОД у тварин обох статей, в більшій мірі у самців. Нами показано, що на тлі введення глюкозаміну відмічається вірогідне зростання сироваткової активності СОД у самців та самок щурів відповідно на 26,0 та 17,3 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, які не отримували лікування. За цих умов середня величина активності СОД в сироватці крові вірогідно не відрізнялась від такого показника в контрольній групі самців та самок щурів. Таким чином, глюкозамін виявляв потужну антиоксидантну дію і перешкоджав розвитку оксидативного стресу у тварин з ГХТ, при чому його дія була більш виразною саме у самців тварин. Наявність антиоксидантної дії глюкозаміну підтверджується і в раніше проведених дослідженнях за умов загального охолодження та локальної холодової травми.

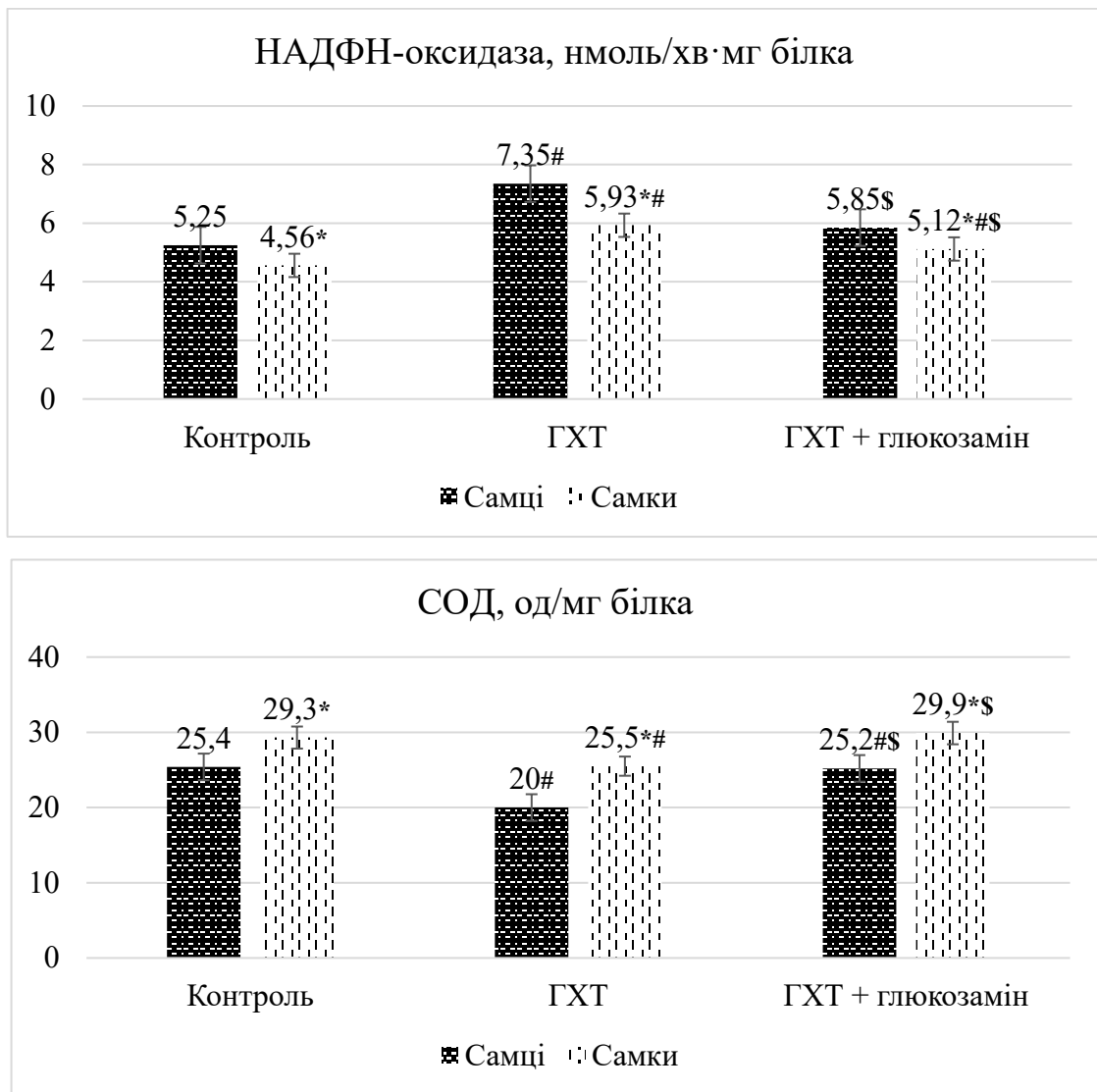


Рис. 4.12. Стан про-та антиоксидантних ферментних систем сироватки крові у самців та самок щурів за ГХТ та на тлі корекції глюкозаміном гідрохлоридом ($M \pm m$, $n=10$) Примітки: 1. * - $p < 0,05$ між самцями та самками в межах групи; 2. # - $p < 0,05$ відносно контрольної групи; 3. \$ - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГХТ

Лікувально-профілактичне введення глюкозаміну за ГХТ супроводжується ендотеліотропною дією, яка проявляється в збільшенні продукції вазодилітаторів, зменшенні адгезії судинних клітин, зниженні активності запального процесу та оксидативного стресу. Вказані ефекти препарату були зафіксовані у тварин обох статей, хоча їх виразність була більшою саме у самців тварин [233].

4.6 Морфологічні зміни шкіри самців та самок щурів за ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду

Для підтвердження отриманих вище результатів про позитивний фригопротекторний вплив глюкозамін гідрохлориду за експериментальної ГХТ було проведено дослідження гістологічних змін в структурі шкіри хвоста у щурів із модельованою патологією на тлі введення глюкозамін гідрохлориду. Отриману морфологічну картину порівнювали із такою у щурів без ГХТ (контроль) та у тварин, які зазнали ГХТ без корекції. Ілюстрація морфологічної картини шкіри хвоста тварин зазначених груп детально описана в розділі 3.1.

Отже, в усіх елементах шкіри хвостів самців, які отримували глюкозамін гідрохлорид з лікувально-профілактичною метою, виявлено ознаки дистрофічні зміни, подібні до таких у тварин без корекції, проте виразність їх була значно меншою (рис. 4.13, 4.14).

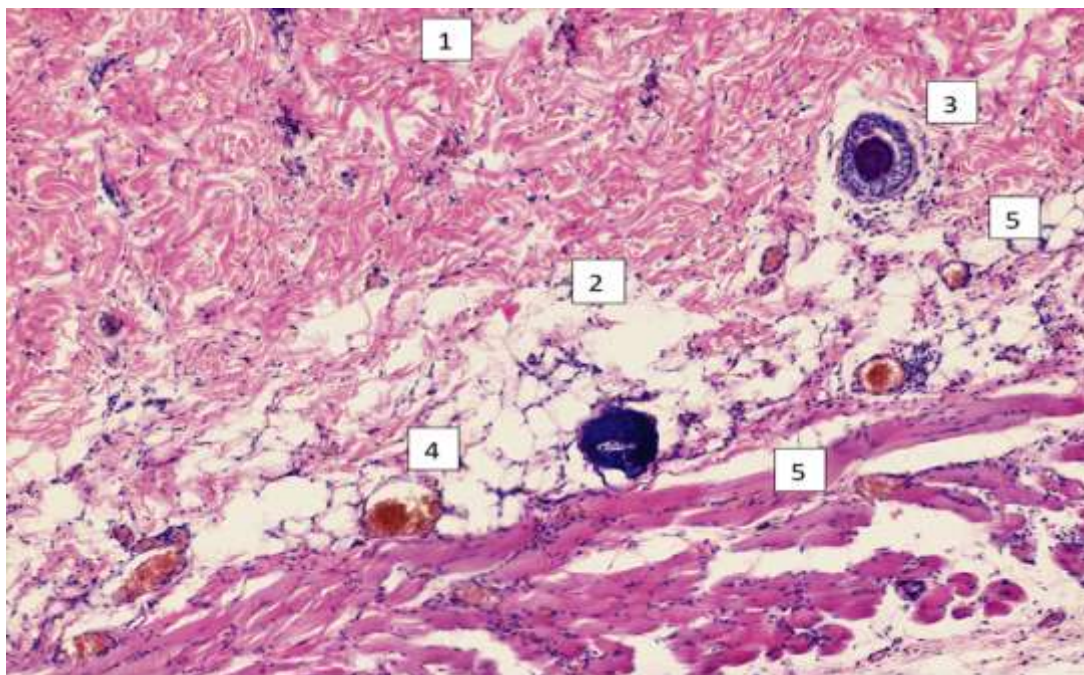


Рис. 4.13. Патологічні зміни шкіри у щурів-самців за ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду. Маловиражений набряк дерми (1) та гіподерми (2); нормальні волосяні фолікули (3); дилатовані повнокровні судини (4); набряк та розшарування м'язової тканини (5). Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

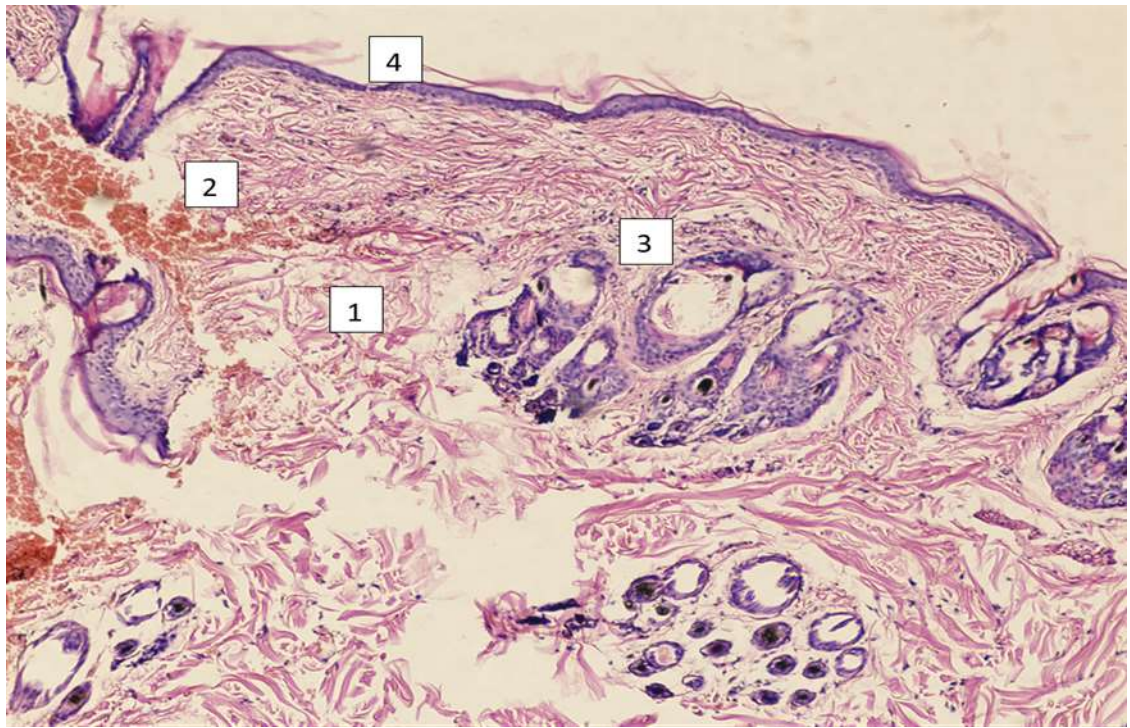


Рис. 4.14. Патологічні зміни шкіри у щурів-самців за ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду. Нерівномірний набряк дерми (1) з вогнищевими крововиливами (2); незначно деформовані волосяні фолікули (3); витончений епідерміс майже рівномірної товщини (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Мали місце незначні порушення мікрогемодинаміки у вигляді еритростазу, лейкостазу, незначного периваскулярного набряку. Тромбоз судин мікроциркуляторного русла не визначався. Епідерміс був нерівномірної товщини за рахунок дистрофічних змін епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав маловиражені сосочки за рахунок незначних контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини дерми. Додатки шкіри мали майже звичайний вигляд. Подекуди у дермі визначалась вогнищева периваскулярна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Судини дерми та гіподерми незначно дилатовані, вистелені витонченим ендотелієм, з еритростазами, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. М'язові волокна розташовувалися пухко через набряк, подекуди визначались помірні контракційні зміни міоцитів.

У щурів-самок в усіх елементах шкіри хвостів також визначалися дистрофічні зміни, але значно менше виражені, ніж у щурів самців цієї групи (рис. 4.15, 4.16).

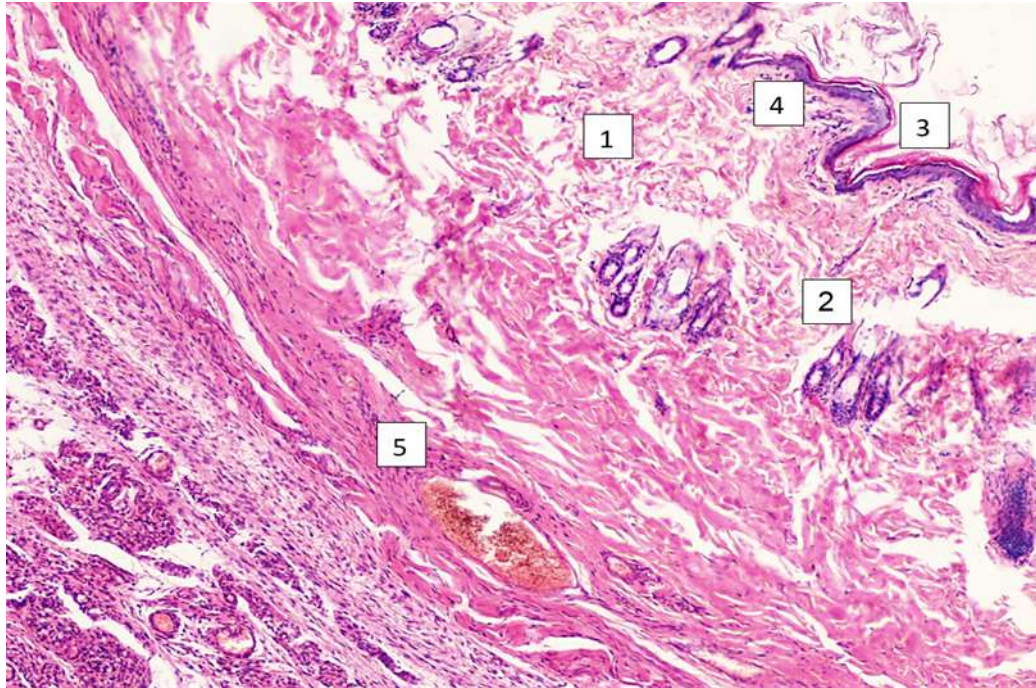


Рис. 4.15. Патологічні зміни шкіри у щурів-самок за ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду. Помірний набряк дерми з вогнищевою контракцією колагенових волокон (1); деформовані волосяні фолікули (2); витончений епідерміс з дистрофічними змінами (3); помірно виражені дермальні сосочки (4); дилатована повнокровна вена зі складжйованими еритроцитами, відсутньою ендотеліальною устійкою (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

Мали місце незначні порушення мікрогемоциркуляції у вигляді еритростазу, лейкостазу, незначного периваскулярного набряку. Тромбоз судин мікроциркуляторного русла не визначався. Епідерміс був рівномірної товщини, мали місце незначні дистрофічні зміни епітеліоцитів, сосочковий шар дерми мав маловиражені сосочки за рахунок незначних контракційних змін колагенових волокон оформленої фіброзної тканини дерми. Додатки шкіри мали звичайний вигляд. Лімфогістіоцитарна інфільтрація не визначалась.

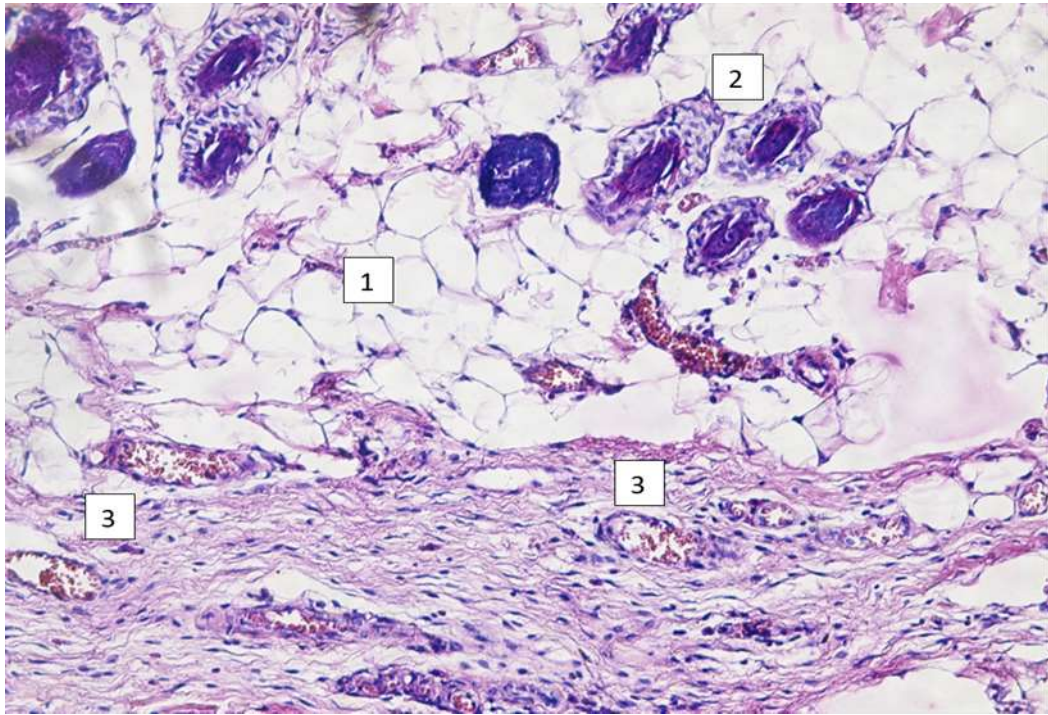


Рис. 4.16. Патологічні зміни шкіри у щурів-самок за ГХТ на тлі профілактично-лікувального введення глюкозаміну гідрохлориду. Незначний набряк гіподерми (1); нормальні волосяні фолікули (2); повнокровні незначно дилатовані вени (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Судини дерми та гіподерми незначно дилатовані, вистелені витонченим ендотелієм, з еритростазами, подекуди з набряком та розшаруванням стінки. М'язові волокна розташовувалися пухко через набряк, подекуди визначались контракційні зміни міоцитів. Зазначені патоморфологічні зміни свідчать про маловиражений вплив ішемічного чинника при дії ГХТ з подальшим застосуванням глюкозаміну гідрохлориду у щурів самиць, що пояснюється впливом естрогенів.

Таким чином, виявлені патоморфологічні зміни демонструють маловиражений вплив ішемічного чинника при дії ГХТ на фоні застосування глюкозаміну гідрохлориду. Реакції органів і обміну речовин на негативний температурний фактор є результатом тривалості впливу холоду та інтенсивності, з якою він впливає на організм, нервової і гуморальної реакцій на стрес, швидкості виснаження енергетичних запасів і підтримання свідомості організму. Механізм захисної дії глюкозаміну цілком співставний

із патогенезом холодової травми, і, як виявилось, його дія проявляється у особин обох статей, причому в більшій мірі – саме у щурів-самців. Це супроводжувалось зменшенням та подекуди повним нівелюванням статъ-індукованих змін морфології шкіри на тлі значного загального покращення патоморфологічної картини ураження за профілактично-лікувального впливу глюкозаміну гідрохлориду.

Проведені дослідження на моделі ГХТ засвідчили наявність у глюкозаміну гідрохлориду потужних фригопротекторних властивостей у тварин обох статей, причому саме у самців щурів вказані ефекти препарату були більш виразними.

Фригопротекторна дія досліджуваного аміноцукру реалізується через коригуючий вплив на ряд патофізіологічних та біохімічних порушень, ініційованих ГХТ, і підтверджена результатами морфологічних досліджень. Нами встановлено ряд механізмів, які інтегруються у фригопротекторну активність глюкозаміну гідрохлориду:

1) зменшення активності системи зсідання крові (вірогідно збільшуються показники АЧТЧ та ТЧ) та зростання активності систем протизсідання та фібринолізу (достовірно зростає сироватковий рівень протеїну С та зменшується вміст ПАІ-1);

2) зменшення активності агрегації тромбоцитів (вірогідно зменшуються показники ступеня спонтанної та АДФ-індукованої АТ);

3) посилення продукції вазодилітаторних молекул (достовірно зростає сироватковий вміст гідроген сульфїду та метаболїтів нїтроген монооксиду)

4) зменшення активності запалення (достовірно знижується сироватковий рівень ІL-1 β), оксидативного стресу (вірогідне знижується активність НАДФН-оксидази та зростає активність СОД в сироватці крові) та судинної адгезії (достовірно знижується сироватковий рівень sVCAM-1);

5) збільшення чутливості ендотелїю судин до дії вазодилітаторів (зменшується середньоефективна концентрація ацетилхолїну для хвостової артерії);

б) посилення периферичної мікроциркуляції (зростають показники мікроциркуляції в задніх кінцівках, вушних раковинах та хвості).

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [219, 220, 232, 233].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Процес статевої диференціації відноситься до розвитку відмінностей між самцями і самками, які широко спостерігаються в природі, а також стосуються людини. Стать вважається частиною біологічної класифікації живих істот, як правило, жіночої або чоловічої статі, тоді як гендер є самоуявленням індивіда, сформованим соціальними та культурними асоціаціями з біологічною статтю. Як стать, так і гендер можуть впливати на діагностику та лікування в усіх сферах здоров'я та захворювань, і, як наслідок, усі галузі досліджень повинні враховувати стать і гендер у дизайні дослідження, аналізі, інтерпретації та звітності про дані. Від таких зусиль залежить можливість відтворення експериментальних даних і можливість узагальнення результатів.

Гендерна медицина – це нова дисципліна, яка зосереджена на дослідженні ролі статі в здоров'ї людини, аналізі пов'язаних із статтю впливів на анатомію, фізіологію, біологію та фармакологію чоловіків і жінок. Гендерні аспекти є ключовими факторами здоров'я, які ширше, ніж прості відмінності, пов'язані зі статтю. Стать вважається однією з індивідуальних детермінант способу життя здоров'я та є незалежним фактором ризику (таким як вік, етнічна приналежність та супутні захворювання) для кількох захворювань. Повідомлялося, що статеві та гендерні відмінності мають значний вплив на патофізіологію, клінічний початок і лікування кількох захворювань. Гендерна медицина має на меті забезпечити найкращу медичну практику та найбільш прийнятний доступний терапевтичний підхід для обох статей, зокрема, встановлюючи персоналізоване/цільове лікування.¹ Багато авторів уже досліджували роль статі в кількох медичних дисциплін, таких як кардіологія, пульмонологія, гастроентерологія та ревматологія. Інтерес до взаємозв'язку

між статтю та стійкістю до екстремальних чинників навколишнього середовища зростає останніми роками.

Важливою проблемою сьогодення є холодова травма. Вона залишається однією з найскладніших і актуальних проблем медицини невідкладної допомоги. Ушкодження організму низькими температурами зустрічаються практично у всіх частинах нашої планети [8]. Наразі ця проблема стала всеохоплюючою і стосується, як і раніше, військових, а також людей, що займаються зимовими видами спорту, туристів, та асоціюється із особами, що проживають в погано прогріваємих помешканнях, безхатками, людьми з психічними розладами, а також такими, що зловживають наркотиками та алкоголем. На сьогодні залишається багато невивчених чинників, які можуть впливати на стійкість до холоду. До них можна віднести вік, стать та, навіть, національність. Згідно більшості даних літератури, відмороження більшою мірою превалюють у чоловічої статі, частіше у чоловіків старшого віку, а вартість лікування таких пацієнтів становить 43400 доларів США, що навіть перевершує вартість лікування пацієнтів з опіками. Таку саму спрямованість статевих відмінностей у відмороженні під час туристичних подорожей відмічають в дослідженні [212]. В своїй роботі [213] проаналізували 697 випадків відморожень в Фінляндії, і виявили, що частота важких відморожень в загальній популяції була більшою у чоловіків, ніж у жінок (14,2 проти 11,9 %) Річна захворюваність на важкі обмороження становила 1,1 % (1,6 % і 0,6 % у чоловіків і жінок відповідно). Сумарна частота важких обморожень протягом життя становила 10,6 % (14,1 % і 7,4 % для чоловіків і жінок відповідно). Більшість випадків обморожень зареєстровано серед таких професійних груп як кваліфіковані працівники сільського господарства та рибальства, ремісники та працівники пов'язаних з ними професій, оператори заводів і машин, монтажники, техніки та інші спеціалісти. Фактори ризику, пов'язані з роботою, включали зайнятість у певних галузях, високе фізичне навантаження та щотижневий вплив холоду на роботі; проте обмороження також могло статися під час дозвілля. Індивідуальними факторами, що

підвищують ризик обмороження, є цукровий діабет, серцева недостатність, стенокардія, інсульт, депресія та надмірне вживання алкоголю. Переважання чоловічої статі у випадках відморожень також спостерігали в роботах [214, 215]. Однак, подекуди в літературі можна відмітити роботи, в яких зазначається, що випадки відморожень у жінок спостерігали частіше, ніж у чоловіків [10, 11]. Ці дані головним чином стосуються молодих жінок-військовослужбовців (менше 20 років). А в роботі [12] зазначається, що хоча частота обмороження рук була більшою у чоловіків (11,4 % проти 7,1 % у жінок), саме жіноча стать показала більшу чутливість до дії холоду, а феномен Рейно зафіксований у 11,0 % чоловіків і 14,0 % жінок.

Такі контраверсійні дані щодо статевої детермінації цієї патології обґрунтовують доцільність поглиблених досліджень розвитку холодової травми у особин чоловічої та жіночої статі, а також необхідність встановлення механізмів, які лежать в основі цих відмінностей.

В лікуванні холодової травми використовують широке коло лікарських засобів різних фармакологічних груп, дія яких співставна з окремими ланками патогенезу патологічного стану – НПЗЗ, психостимулятори, адаптогени та актопротектори, гепатопротектори, вітамінні засоби тощо [15]. Згідно експериментальних досліджень, найбільшу ефективність показав препарат глюкозаміну гідрохлорид. Його фригопротекторна активність доведена як в експерименті, так і в клінічних умовах, і забезпечується комплексним механізмом його дії, який цілком співставляється із патогенезом як загального, так і локального охолодження [9]. Однак на тепер відсутні дані щодо статевих відмінностей дії цього препарату в експерименті та в умовах клініки, і, зокрема, за умов холодової травми, що свідчить про доцільність наукового пошуку в цьому напрямку. Нез'ясованими залишаються питання впливу статевих гормонів в проявах статево-детермінованих уражень за холодової травми.

Тому метою дисертаційної роботи стало експериментальне обґрунтування нових підходів до фригопротекції на основі дослідження

статевих особливостей судинних і реологічних порушень за гострої холодової травми та на тлі корекції глюкозаміну гідрохлоридом.

Згідно мети та поставлених завдань робота складалась з декількох частин. **На першому етапі** було досліджено існування та характер статевих відмінностей у відповіді організму на дію екстремально низьких температур.

Отримані результати показали існування секс-специфічної реакції організму тварин на витривалість в умовах гострого загального охолодження, особливість судинних змін за ГХТ, а також визначили ступінь залежності виявлених відмінностей від рівня гонадальних гормонів. Самки мишей виявились більш витривалими за умов експериментальної ГХТ, аніж самці, оскільки середній показник тривалості життя тварин чоловічої статі був на 38,1 % меншим, аніж жіночої ($p < 0,05$).

Виявлені статеві відмінності переносимості холодового чинника значною мірою зумовлені судинним компонентом. Численні клінічні спостереження свідчать, що обмороження зазвичай виникає в дистальних крайніх частинах, найбільш віддалених від «серцевого циркуляторного насосу» і центрального ядра. При низьких температурах організму необхідно зменшити периферичну перфузію та «пожертвувати» периферією, щоб забезпечити виживання організму [216]. Виникає спазм кровоносних судин шкіри та підлеглих тканин, окремі судини можуть закриватись. Таким чином, кров шунтується від кінцівок до ядра тіла, допомагаючи зберегти температуру ядра тіла [217]. Обмороження в результаті впливу мінусових температур найчастіше вражає пальці рук, ніг, вуха та ніс. Отримані в нашій роботі результати показали, що 2-х годинне перебування тварин під впливом екстремально низьких температур викликає погіршення кровопостачання органів у тварин обох статей, більше – у самців. Найбільше страждають нижні кінцівки тварин, менше – вушні раковини та хвіст. У самців коефіцієнт мікроциркуляції задніх кінцівок, вушних раковин та хвоста зменшились на 72,2, 55,3 та 35,1 %, порівняно з таким показником до ГХТ ($p < 0,05$), натомість у самок – на 66,5, 44,3 та 18,6 % ($p < 0,05$). Більш значне потерпання задніх

кінцівок, можливо, є результатом контрактної дії холодного пластикового боксу під час моделювання експериментальної патології, тоді як вуха щурів не торкались холодних поверхонь. В свою чергу, кровопостачання хвоста забезпечується кровоносними судинами більшого калібру, аніж вуха та навіть кінцівки, крім того, хвіст має особливості анатомо-гістологічної будови, завдяки чому він в меншому ступені демонструє судинні зміни в ранньому періоді холодової травми, тоді як у відновному періоді, згідно наших спостережень та дані інших дослідників, саме хвіст потерпає найбільше [218]. Ці результати цілком співставні з іншими дослідженнями, які стосуються статевих відмінностей виживаності тварин та біохімічних змін в організмі тварин різної статі за ГХТ [219, 220].

Гостра холодова травма викликає вірогідне зменшення ацетилхолін-ініційованого розслаблення фрагментів хвостової артерії у самців та самок щурів, причому виразність змін залежала від статі. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самок з ГХТ на 16,6 % ($p < 0,05$) перевищує значення відповідного контролю, тоді як аналогічний показник самців перевищує значення відповідного контролю на 28,2 % ($p < 0,05$).

Патогенетичні процеси, що відбуваються при охолодженні організму, є результатом дії сукупності таких факторів, як біль, токсемія, претромботичний стан, порушення капілярного кровообігу, тощо. Особлива роль в патогенезі належить розладам мікроциркуляції [146]. Внаслідок безпосередньої дії холодового чинника, а також спазму судин, виникає гіпоксія, за якої спостерігається накопичення біологічно активних молекул (серотонін, кініні, гістамін, деорівати арахідонової кислоти), які зумовлюють патологічні зміни в судинному руслі [147]. Важливе місце в механізмах розвитку патології при відмороженні займають процеси альтерації ендотелію. За сучасними уявленнями, він розглядається не тільки як гематотканинний бар'єр, але й як нейроендокринний орган [221], який виконує ряд функцій: регуляцію тромбогенності та резистентності, тонуусу судин, адгезії лейкоцитів. Регуляція цих процесів відбувається за допомогою медіаторів [132, 222]. Під

дисфункцією ендотелію прийнято розуміти порушення рівноваги медіаторів, що регулюють вазоконстрикцію і вазодилатацію. Ендотеліальні клітини судин через високу ступінь диференціювання дуже чутливі до дії низьких температур [139]. Наслідком цього можуть бути серйозні порушення системи згортання крові, фібринолізу і тканинного обміну [139, 140].

Наші результати також показали, що ГХТ у тварин викликає цілу низку молекулярних порушень із збільшенням вмісту в крові вазоконстрикторів та зменшенням рівня вазодилатуючих молекул. Ці порушення були більш вираженими у самців тварин, оскільки вміст H_2S та NO на 3 добу після ГХТ знижувався на 30,1 та 31,8 %, відповідно ($p < 0,05$), проти 19,9 та 25,1 % у особин протилежної статі. Вміст ендотеліну-1 у тварин чоловічої статі зростала на 45,0 %, а у жіночої – на 27,9 % ($p < 0,05$).

Розвиток ендотеліальної дисфункції за ГХТ підтверджує також зростання рівня важливої молекули адгезії (sVCAM-1). Її вміст в крові самців підвищувався на 31,9 % ($p < 0,05$), а у самок – на 24,8 % ($p < 0,05$), відносно контролю. За цих умов відмічається поглиблення статевих відмінностей функціонування ендотелію: в групі ГХТ рівень sVCAM-1 у крові самок стає меншим на 17,9 % ($p < 0,05$), порівняно до такого у самців.

Таким чином, можна відмітити, що гостре загальне охолодження супроводжується розвитком оксидативного стресу (підвищенням активності НАДФН-оксидази, зниженням активності СОД у тварин обох статей), розвитком запальних процесів (зростання вмісту інтерлейкіну 1β), підвищенням вмісту вазоконстрикторних (ендотелін-1 та sVCAM-1) та зменшенням продукції вазодилатуючих молекул (NO та H_2S), які відбуваються у стать-специфічний спосіб – в більшій мірі у тварин чоловічої статі. Натомість ступінь ендотеліальної дисфункції, виразність оксидативного стресу та запалення у особин жіночої статі були статистично меншими.

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 [139]. 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 [108, 141].

Експериментальна ГХТ викликає статистично вірогідні зміни показників, які характерні для посилення коагуляційних процесів та зниження антикоагулянтної ланки гемостазу, у тварин обох статей, однак виразність цих процесів була більше вираженою у самців щурів. Так, у тварин цієї статі зареєстровано статистично вірогідне збільшення показників ПАІ-1 та ПЧ, який є показником активності залежних від вітаміну К плазмових факторів VII, X і II (їх називають протромбіновим комплексом), а також фактора V і фібриногену. Значне підвищення цих показників свідчать на користь посилення зовнішнього шляху активації системи згортання і є ознакою ДВЗ-синдрому. Підвищення вмісту цих показників разом із суттєвим зменшенням протеїну С (основного фізіологічного антикоагулянта) свідчить про розвиток тромбофілії. Також було виявлено скорочення АЧТЧ та ТЧ, які дають змогу оцінити внутрішній шлях гемокоагуляції. ТЧ як показник трансформації фібриногену у фібрин, залежить від концентрації та властивостей фібриногену, а також перебігу процесів полімеризації фібриногену та стабілізації фібрину. Його вміст дозволяє оцінити завершальну стадію загального шляху згортання.

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. Прискорення саме АДФ-стимульованої агрегації зумовлене особливостями патогенезу індукованих холодним чинником змін, а саме утворенням в результаті розвитку запального процесу і активації каскаду арахідонової кислоти, її активного деривату – тромбоксану А₂, який здійснює позитивний зворотній зв'язок, а саме, рекрутує велику кількість фібриногенових рецепторів GРІІb/ІІа та посилює сигнал активації, який передається до внутрішніх ефекторних структур клітини, що сприяє підвищеному тромбоутворенню [223]. 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, проти 42,6 та 28,0 %, відповідно у тварин протилежної статі ($p < 0,05$).

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 [9, 224].

Для морфологічних досліджень було обрано шкіру хвоста щурів, незважаючи на те, що ступінь порушень мікроциркуляції в цьому органі була не найбільшою, цей вибір ґрунтувався на клінічних спостереженнях, коли після дії холодного чинника у тварин найчастіше виникали некротичні зміни саме хвоста. Крім того, до уваги було взято зоогеографічне правила Аллена: в холодному кліматі частини тіла теплокровних, що виступають, менші (коротші), ніж у споріднених видів у теплом кліматі (і навіть у межах одного виду). Це сприяє економії тепла в умовах холоду та кращій тепловіддачі в теплі. Отже, показово нами було взято саме хвіст тварин, де індуковані холодом зміни завжди виразніші [225]. Патоморфологічні зміни засвідчили, що вплив холодного чинника на стан шкіри у тварин характеризується значними дистрофічними змінами в епідермісі, дермі та нервових волокнах, вираженим набряком та розшаруванням дерми, дилатацією та

мікротромбозами судин, порушенням структури судинного ендотелію. Дані зміни переважали у тварин чоловічої статі, в той час як у самок патологічні зміни були значно меншими. Ці зміни, як і інші показники, були менш виразними у тварин зі зміненим гормональним статусом – у кастрованих самок виразність патоморфологічних процесів, ініційованих холододовим чинником, була вищою за такі у кастрованих самців.

При аналізі отриманих результатів виникає цілком логічне питання щодо причин, які лежать в основі виявлених статевих відмінностей. На нашу думку, вирішальна роль секс-залежним особливостям відповіді організму на холододову травму належить статевим гормонам. Тому **на другому етапі роботи** було досліджено участь гонадальних гормонів в реалізації статевих відмінностей патологічних змін, спричинених холододовою травмою. Виявлено, що тип та рівень насиченості організму статевими гормонами створюють певний метаболічний фон, на якому реалізуються гендерні відмінності у чутливості організму на екстремально низьких температур. Естрадіол захищає організм самок від обмороження, тоді як тестостерон такими властивостями не володіє. Оцінка вмісту статевих гормонів у контрольних тварин та на 21 добу після хірургічної кастрації та співставлення цих даних із змінами виживаності мишей за експериментального ГЗО показала, що гонадектомія самок викликала різке зниження вмісту естрадіолу (в 9,06 рази), що супроводжувалось зниженням часу життя за ГХТ на 10,5 % ($p < 0,05$), тоді як гонадектомія самців викликала падіння вмісту тестостерону в 15,2 рази, навпаки, асоціювалась із збільшенням тривалості життя на 27,5 % ($p < 0,05$).

Моделювання ГХТ у кастрованих самок щурів викликала більш масштабні порушення гемоперфузії порівняно з особинами чоловічої статі: показник мікроциркуляції хвоста, задніх кінцівок та вушної раковини у самців щурів на тлі ГХТ знижувався на 25,4, 66,4 та 40,7 %, відповідно ($p < 0,05$), натомість у тварин протилежної статі – на 32,5, 78,8 та 47,4 %, відповідно ($p < 0,05$), посилювала зміни гемостазіологічних показників, тоді як у самців

ступінь виразності порушень тромбоцитарного і коагуляційного гемостазу була меншою.

Модулювання рівня статевих гормонів змінює чутливість тварин різної статі до ендотеліотоксичної дії ГХТ. На тлі гонадектомії тварин ГХТ також супроводжується накопиченням вазоконстриктора ендотеліну-1, але виразність змін більш суттєві саме у кастрованих самок. У групі кастрованих самців збільшення сироваткового рівня ендотеліну-1 становить 28,9 % проти 44,2 % у самок ($p < 0,05$), зменшення сироваткових рівнів H_2S та NO - відповідно 16 та 14,8 % ($p < 0,05$), проти 31,5 та 36,6 % відносно контролю у кастрованих самок. За цих умов відмічається зникнення статистично вірогідних статевих відмінностей більшості показників в сироватці крові. Кастрація тварин до певної міри змінює вектор стать-специфічних змін функціонального стану ендотелію судин на тлі ГХТ. За цих умов виразність ендотеліальної дисфункції є вірогідно більшою у кастрованих самок ніж у гонадектомованих самців.

Ступінь виразності морфологічних змін підтверджує зміну вектора статевих відмінностей в пошкоджуючій дії ГХТ у кастрованих тварин [226].

На нашу думку в основі статевого диморфізму судинної відповіді на холододову травму та її корекцію глюкозаміном головна роль належить гонадальним гормонам, які безпосередньо причетні до регуляції експресії чи модуляції активності ензимів, залучених до утворення вазоактивних молекул. Зокрема, більша стійкість особин жіночої статі до дії холоду зумовлена позитивним впливом оваріальних естрогенів на судинний тонус [227], які реалізуються головним чином через негеномні механізми, а саме через вплив на екзонуклеарні естрогенні рецептори й іонні канали [228]. Крім того, естрогени підвищують продукцію вазодилаторних молекул як наприклад, гідроген сульфід і зменшують продукцію вазоконстрикторних дериватів циклооксигенази, а також інших потужних вазоконстрикторів, наприклад ендотеліну [229]. Статеві відмінності активності про-антиоксидантних ензимів та активності вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів також

обумовлені різноспрямованим впливом статевих гормонів на вказані процеси. Зокрема, за даними літератури, саме естрогенам притаманна антиоксидантна дія, тоді як у особин чоловічої статі інтенсивність оксидативного стресу є більшою [230].

Тобто, наші результати підтвердили, що генетично детермінований рівень статевих гормонів формує відповідне «тло», на якому організм самок виявляється більш стійким щодо впливу різних екстремальних чинників, в т.ч. і температурних. Саме естрогенам та прогестерону притаманна позитивна вазотропна дія [227, 228]. Рецептори естрогену, прогестерону були ідентифіковані в кровоносних судинах людини та інших ссавців і локалізовані в плазмалемі, цитозолі та ядерних компартментах різних судинних клітин, включаючи ендотелій і клітини гладкої мускулатури. Взаємодія статевих гормонів з цитозольними/ядерними рецепторами викликає довгострокові геномні ефекти, які можуть стимулювати ріст ендотеліальних клітин, пригнічуючи проліферацію гладкої мускулатури. Активація рецепторів статевих гормонів плазмалеми може викликати гострі негеномні відповіді, які можуть стимулювати ендотелій-залежні механізми релаксації судин, пов'язані із нітроген монооксид-цГМФ, простациклін-цАМФ та гіперполяризацією міоцитів. Додаткові ендотелій-незалежні ефекти статевих гормонів можуть включати інгібування сигнальних механізмів скорочення гладкої мускулатури судин, таких як внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} і протеїнкінази С. Індукована статевими гормонами стимуляція ендотелій-залежних механізмів судинної релаксації та інгібування механізмів скорочення гладкої мускулатури судин може сприяти статевим відмінностям у судинному тонусі та може представляти потенційні сприятливі судинні ефекти замісної гормональної терапії під час природного та хірургічно спричиненого дефіциту гонадальних гормонів [231].

При обмороженні вплив холоду може призвести до неадекватного кровопостачання через реактивні судинні зміни, в результаті чого рефлекторно виникають артеріальні та венозні звуження. Крім того

обмороження може призвести до пошкодження ендотелію, тромбоемболії та гіперпродукції прозапальних молекул та медіаторів - простагландинів та вільних радикалів, в результаті чого відбувається суттєве зниження кровопостачання. На цих патобіохімічних змінах в організмі за ГХТ досить чітко спостерігаються ефекти естрогенів – протизапальний, антиоксидантний, антиапоптотичний тощо. Натомість андрогенам притаманна дуальна роль щодо тонуусу судин, з превалюванням ендотеліального синтезу вазоконстрикторних молекул та вільних радикалів кисню [55].

Третій етап дослідження був присвячений дослідженню статевому диморфізму захисної дії глюкозаміну за умов гострого загального охолодження. Виявлено, що лікувально-профілактичне введення глюкозаміну суттєво зменшує виразність патологічних змін в організмі тварин, спричинені ГХТ, при чому більш суттєво його захисна дія проявляється у самців щурів. Так, середній показник тривалості життя самців на тлі ГХТ за попереднього введення глюкозаміну гідрохлориду (50 мг/кг внутрішньощлунково) статистично вірогідно збільшувався на 38,6 %, тоді як у самок – лише близько 10 % порівняно з тваринами без лікування. Водночас ступінь виразності статевого диморфізму зменшилась у 2,6 разу, і хоча тривалість життя самок була дещо більшою за самців, ця різниця не сягала статистично вірогідних значень. Ступінь виразності статевих відмінностей показників, що вивчались, залишається, однак різниця в показниках між тваринами різної статі зменшується. Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду практично в рівній мірі подовжувало витривалість щодо екстремально низьких температур у кастрованих тварин: у самців показник тривалості життя подовжувався на 22,1 %, у самок – на 29,5 %. Відмінності абсолютного показника за цих умов експерименту між самцями та самками не перевершували значень статистичної похибки. При цьому звертає на себе увагу той факт, що введення глюкозаміну гідрохлориду не сприяє суттєвим коливанням вмісту гонадальних гормонів ні у самців, ні у самок. Так, після його 7-денного введення самкам рівень естрадіолу в сироватці крові зростав

невірогідно (на 8,96 %) відносно контрольних тварин. Введення цього препарату самцям практично не змінювало рівень тестостерону.

Результати електрофізіологічних досліджень показали, що використання глюкозаміну гідрохлориду за експериментального гострого загального охолодження супроводжується статистично вірогідним покращенням показників периферичної мікроциркуляції вушних раковин, задніх кінцівок та хвоста у тварин обох статей порівняно з нелікованими тваринами, причому у самців щурів цей ефект був вищим ніж у самок. Також після ГХТ відмічається менша вазоспастична схильність хвостових артерій тварин, яким попередньо вводили глюкозаміну гідрохлорид. Середньоефективна концентрація ацетилхоліну у самців з ГХТ на тлі лікування становить $0,219 \pm 0,007$ мкмоль/л і за середнім показником на 18,5 % ($p < 0,05$) поступається значенню нелікованих самців, у самок аналогічний показник становить $0,161 \pm 0,006$ мкмоль/л, що на 12,0 % ($p < 0,05$) поступається значенню нелікованих самок тварин.

Профілактичне введення глюкозаміну протидіяло порушенням згортальної системи крові, спричинених ГХТ, та зменшувало проагрегантні розлади у тварин обох статей. Введення аміноцукру перед ГХТ супроводжувалось зменшенням показника АЧТЧ у на 50,4 та 45,3 % відповідно у самців та самок ($p < 0,05$), та збільшенням показників АЧТЧ, ТЧ та протеїну С – відповідно, на 24,2, 24,8, 15,8 % у самців та на 14,4, 14,5 та 11,9 % ($p < 0,05$) у самок відносно таких значень у тварин без корекції. Дані зміни асоціювались із виражену нормалізуючим впливом глюкозаміну на показники спонтанної, та АДФ-індукованої АТ. Цей вплив також мав місце у тварин обох статей, ступінь підвищення досліджуваних показників 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.

Лікувально-профілактичне введення глюкозаміну викликало суттєве зменшення дисбалансу в системі вазоконтсриктори-вазодилататори, виявляло протизапальну дію та суттєво зменшувало прояви оксидативного стресу, викликані дією холодowego чинника у тварин обох статей: зростання вмісту ендотеліну-1 та sVCAM-1, так само як і падіння рівнів NO H₂S було меншим, порівняно з тваринами з ГХТ без корекції, однак повного повернення показників до рівня контрольних тварин не було відмічено. Цікавим виявився той факт, що нормалізуюча дія на показники, що вивчались, у глюкозаміну більш виразно проявилась саме у тварин чоловічої статі, за винятком sVCAM-1, вміст якого зменшувався у самців і самок практично в рівній мірі - на 11,15 та 11,08 % відповідно ($p < 0,05$) відносно щурів з ГХТ. Статева різниця рівня всіх показників у крові тварин за цих умов експерименту зберігалась. Порівняно з нелікованими тваринами, активність НАДФ-оксидази збільшувалась лише на 11,42 та 12,28 % у самців та самок, відповідно, і це значення не поверталось до вихідного рівня. Натомість активність СОД – навпаки, вірогідно зростала на 26,0 та 17,3 %, відповідно у самців та самок порівняно з тваринами з ГХТ без корекції. Значення цього показника практично сягало рівня у контрольних тварин.

Клінічні, біохімічні та електрофізіологічні результати нашої роботи повною мірою підтверджують дані морфологічних досліджень, які демонструють меншу виразність дистрофічних, запальних та тромботичних змін у тварин на тлі введення глюкозаміну гідрохлориду, при цьому статева різниця між тваринами зменшувалась, хоча і не була повністю нівельована.

Виразна фригопротекторна дія глюкозаміну детально досліджена в наукових працях інших дослідників [178, 220, 226, 232, 233.]. В роботах Є.В. Бондарєва [234, 235, 236, 237] експериментально доведена фригопротекторна дія глюкозаміну, яка реалізується за рахунок підвищення резистентності організму тварин до негативного впливу низьких температур, нормалізації балансу N-ацетилглюкозаміну в печінці, нирках та сироватці крові, відновлення порушень ЦНС, енергетичного та вуглеводного обміну,

усунення метаболічного ацидозу, імунотропної дії, а саме зменшення дисбалансу про- та протизапальних цитокінів, зниження активності симпатoadреналової системи, модуляції M-холінергічних та α 1-адренергергічних систем. Певний внесок до механізму фригопротекторної дії роблять також антиоксидантні, протизапальні, мембраностабілізуючі, гепато-, нефро-, кардіопротекторні та репаративні властивості глюкозаміну [155, 156, 161, 168, 191]. До того ж препарати глюкозаміну здатні усувати гемореологічні розлади, спричинені гострим охолодженням. За виразністю комплексної фригопротекторної дії [9, 178], а також за рівнем безпеки препарати глюкозаміну вірогідно перевершували еталонний фригопротектор ацетилсаліцилова кислота.

Саме ці механізми протекторні властивості найбільшою мірою співставляються з патологічними змінами, які викликає ГХТ як у самців, так і у самок піддослідних тварин. Це відкриває нові можливості щодо використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці холодової травми різної етіології та дозволяють розширити показання до медичного застосування глюкозаміну гідрохлориду, який до цього часу використовується переважно з хондропротекторною метою.

Підвищена чутливість до захисної дії глюкозаміну за умов ГЗО у тварин чоловічої статі потребує подальших поглиблених досліджень, хоча можна відмітити, що основні патобіохімічні механізми реовазотропного впливу глюкозаміну мають аналогічну спрямованість до дії естрогенних гормонів (за відсутності прямої естрогеноподібної дії), що до певної міри доповнює фармакодинаміку цієї сполуки.

Отримані результати обумовлюють необхідність подальших поглиблених досліджень механізмів існування статевого диморфізму за холодової травми, а також стать-детерміновані особливостей відповіді організму на захисну дію глюкозамін гідрохлориду, що дозволить проводити ефективну та якісну персоналізовану фармакотерапію холодової травми.

ВИСНОВКИ

1. У скринінговому дослідженні показано, що тривалість життя самок мишей за умов експериментальної гострої холодової травми на 38,1 % більше, ніж у самців ($p < 0,05$). Кастрація самців збільшує показник виживаності на 27,5 %, тоді як тривалість життя кастрованих самок мишей зменшується на 10,5 % порівняно зі статевозрілими тваринами ($p < 0,05$). Глюкозаміну гідрохлорид дозою 50 мг/кг внутрішньошлунково статистично вірогідно подовжував тривалість життя за гострого загального охолодження у тварин обох статей, однак його захисна дія була більш виразною у самців (збільшення показника виживаності у самців становила 38,6 % проти 9,78 % у тварин протилежної статі). Статеві відмінності у виживаності тварин за ГХТ на тлі дії глюкозаміну гідрохлориду нівелювались.

2. Двогодинне перебування тварин під впливом екстремально низьких температур викликає значне погіршення кровопостачання органів-мішеней у тварин обох статей з переважанням у самців. Кастрація тварин змінювала вектор статевих відмінностей мікроциркуляції та скоротливості судин на тлі гострої холодової травми в бік переважання патологічних процесів у кастрованих самок щурів. Введення глюкозаміну вірогідно покращувало кровопостачання та скоротливу здатність хвостових артерій у щурів обох статей, більшою мірою в самців: показники мікроциркуляції задніх кінцівок, вушних раковин та хвоста у самців порівняно з нелікованими тваринами покращувались на 60,4, 40,1 та 30,9 %, тоді як у самок – на 36,2, 6,50 % та 20,7 % відповідно ($p < 0,05$), а ступінь ацетилхолін-ініційованого розслаблення фрагментів хвостових артерій самців коливався в межах 12,8-78,0 % проти 10,9-73,2 % у нелікованих тварин, тоді як у самок – в діапазоні 17,1-86,4 %, проти 15,2-83,3 % у нелікованих тварин. Середньоєфективна концентрація ацетилхоліну підвищувалась відповідно на 16,6 та 28,2 % ($p < 0,05$) у самок та самців щурів.

3. Експериментальна ГХТ викликає статистично значуще зростання показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також спонтанної та АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів. Ці зміни більш виражені в тварин чоловічої статі. Кастрація тварин супроводжувалась змінами стать-специфічного вектору реологічних змін: у самців ступінь змін на тлі холодового чинника були вірогідно менш виразним порівняно із самками.

Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду протидіяло порушенням згортальної системи крові, спричинених гострою холодовою травмою у тварин обох статей, більшою мірою в тварин чоловічої статі. Протромбіновий час у самців зменшувався на 50,3 %, тоді як у самок – на 29,6 % ($p < 0,05$) в порівнянні з показником за гострої холодової травми без корекції. Показники активованого часткового тромбoplastинового часу, тромбінового часу та рівень протеїну С у самців підвищувались на 24,2, 24,8, 15,8 % відповідно ($p < 0,05$), тоді як у самок – на 14,4, 14,5 та 11,9 % відповідно ($p < 0,05$) порівняно з показниками нелікованих тварин. Поряд з цим глюкозаміну гідрохлорид нормалізував показники агрегації тромбоцитів у тварин обох статей (ступінь підвищення показників спонтанної та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів у самців та самок відрізнялась від такої у тварин контрольної групи однаковою мірою – на 24 % та 11-13 % ($p < 0,05$). Патерн статевої різниці між тваринами (переважання процесів агрегації у самців) за даних умов експерименту зберігався, однак різниця не сягала статистично вірогідних значень.

4. Гостра холодова травма викликає низку судинних порушень з розвитком ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення, причому їх виразність була більшою у тварин чоловічої статі: на 3 добу після травми в самців вміст H_2S , NO та активність СОД вірогідно знижувались на 30,1, 31,8 та 21,3 %, відповідно (проти 19,9, 25,1 та 12,9 % у самок, $p < 0,05$), рівні ендотеліну-1, sVCAM, IL-1 β та активність НАДФН-оксидази зростали відповідно на 45,0, 31,9, 227 та 43,6 % (проти 27,9, 143, 24,8 та 30,0 % у самок,

$p < 0,05$) відносно контрольної групи. У кастрованих щурів ступінь виразності вказаних змін набував протилежної спрямованості.

Глюкозаміну гідрохлорид за лікувально-профілактичного введення на тлі гострої холодової травми виявляє антиоксидантну, ендотеліопротекторну та протизапальну активності з переважанням в особин чоловічої статі: вміст H_2S , NO та активність СОД у них порівняно з нелікованими тваринами вірогідно зростали на 22,8, 22,6 та 26,0 %, відповідно (проти 12,1, 14,8 та 12,3 % у самок, $p < 0,05$), а рівень sVCAM, IL-1 β та активність НАДФН-оксидази, навпаки, були меншими відповідно на 15,7, 46,9 та 11,4 % (проти 11,0, 22,2 та 12,3 % у самок, $p < 0,05$) щодо показників контрольної групи. Статеві відмінності зазначених параметрів залишаються, однак різниця в показниках між тваринами різної статі зменшуються.

5. Гостра холодова травма викликає порушення морфологічної будови шкіри хвоста у самців та самок щурів – значні дистрофічні зміни в епідермісі, дермі та нервових волокнах, порушення мікрогемодинаміки ішемічного характеру, еритро- та лейкостаз, мікротромбози, периваскулярний набряк, ознаки ендотеліальної дисфункції. Зазначені зміни були більш виразними у самців тварин. Профілактично-лікувальне застосування глюкозаміну гідрохлориду зменшувало прояви патологічних змін гістоструктури шкіри тварин обох статей, хоча й не усувало повністю дію патологічного чинника. Більш виразний фригопротекторний вплив аміноцукру спостерігався в самців, і ступінь статевих відмінностей на тлі холодової травми за його впливу суттєво зменшувався.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сіренко, Ю. М. (2022). Стан проблеми серцевосудинної захворюваності та смертності в Україні. *Ліки України*, 2(258), 11-14.
2. Denefil, O. V., Druziuk, R. B., Medynskyi, M. I., Fedoniuk, L. Y., & Nebesna, Z. M. (2023). The peculiarities of biochemical and morphological changes in the heart of the castrated rats in the development of adrenalin damage of heart. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 76(2), 274-84. <https://doi.org/10.36740/WLek202302105>.
3. Ji, H., Kwan, A. C., Chen, M. T., Ouyang, D., Ebinger, J. E., Bell, S. P., ... Cheng, S. (2022). Sex differences in myocardial and vascular aging. *Circulation research*, 130(4), 566-577. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319902>.
4. Cooper, A. J., Gupta, S. R., Moustafa, A. F., & Chao, A. M. (2021). Sex/gender differences in obesity prevalence, comorbidities, and treatment. *Current obesity reports*, 10(4), 458-466. <https://doi.org/10.1007/s13679-021-00453-x>
5. Melnik, A. V. (2017). Effect of polyphenol compounds on the aorta state in male and female rats under conditions of hyperhomocysteinemia. *Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald*, 3, 35-38.
6. Huhn, A. S., Berry, M. S., & Dunn, K. E. (2019). Review: sex-based differences in treatment outcomes for persons with opioid use disorder. *The American journal on addictions*, 28(4), 246-261. <https://doi.org/10.1111/ajad.12921>.
7. Mills, Z. B., Faull, R. L. M., & Kwakowsky, A. (2023). Is hormone replacement therapy a risk factor or a therapeutic option for Alzheimer's disease? *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3205. <https://doi.org/10.3390/ijms24043205>.
8. Shakirov B. M. (2020). Frostbite injuries and our experience treatment in the Samarkand area Uzbekistan. *International journal of burns and trauma*, 10(4), 156-161.
9. Бондарєв, Є. В. (2020). Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами

- метаболітоτροпної та протизапальної дії* [Автореф. дис. докт. фармацевтичних наук, Харківський національний фармацевтичний університет]. eaNUPh. <http://dSPACE.nuph.edu.ua/handle/123456789/24555>.
10. DeGroot, D. W., Castellani, J. W., Williams, J. O., & Amoroso, P. J. (2003). Epidemiology of U.S. Army cold weather injuries, 1980-1999. *Aviation, space, and environmental medicine*, 74(5), 564-570.
 11. Nagarajan S. (2015). Update: Cold weather injuries, active and reserve components, U.S. Armed Forces, July 2010-June 2015. *MSMR*, 22(10), 7-12.
 12. Stjernbrandt, A., Bjor, B., Andersson, M., Burstrom, L., Liljelind, I., Nilsson, T., ... Wahlstrom, J. (2017). Neurovascular hand symptoms in relation to cold exposure in northern Sweden: a population-based study. *International archives of occupational and environmental health*, 90(7), 587-595. <https://doi.org/10.1007/s00420-017-1221-3>.
 13. Yang, X., Qin, L., Liu, J., Tian, L., & Qian, H. (2012). 17 β -Estradiol protects the liver against cold ischemia/reperfusion injury through the Akt kinase pathway. *The Journal of surgical research*, 178(2), 996-1002. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2012.07.007>.
 14. Кравець, О. В., Єхалов, В. В., & Седінкін, В. А. (2022). Оптимізоване життєзабезпечення при ненавмисному загальному переохолодженні організму (науково-літературний огляд). *Медицина невідкладних станів*, 18(1), 12-20. <https://doi.org/10.22141/2224-0586.18.1.2022.1453>.
 15. Бондарев, Є. В., & Штриголь, С. Ю. (2016). Фригопротектори. У *Фармацевтична енциклопедія, видання третє, доповнене* (с. 1816-1817). Моріон.
 16. Plebani, M., & Lippi, G. (2013). Personalized (laboratory) medicine: a bridge to the future. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 51(4), 703-706. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0021>.
 17. Bren, L. (2005). Does sex make a difference? *FDA consumer*, 39(4), 10-15.

18. Baggio, G., Corsini, A., Floreani, A., Giannini, S., & Zagonel, V. (2013). Gender medicine: a task for the third millennium. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, *51*(4), 713-727. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0849>.
19. Kautzky-Willer, A. (2014). Gendermedizin. Geschlechtsspezifische Aspekte in der klinischen Medizin [Gender medicine. Sex- and gender-specific aspects of clinical medicine]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, *57*(9), 1022-1030. <https://doi.org/10.1007/s00103-014-2011-7>.
20. Krall, Lisa & Schmitz, Sigrid (2016). Potenziale epigenetischer Forschung für das Konzept, sex vs. Gender. *Gender*, *8*(2), 99-116. <https://doi.org/10.3224/gender.v8i2.23736>.
21. Ali, B. H., Ben Ismail, T. H., & Basir, A. A. (2001). Sex difference in the susceptibility of rats to gentamicin nephrotoxicity: influence of gonadectomy and hormonal replacement therapy. *Indian Journal of Pharmacology*, *33*, 369-373.
22. Cocco, G., & Chu, D. (2006). The anti-ischemic effect of metoprolol in patients with chronic angina pectoris is gender-specific. *Cardiology*, *106*(3), 147-153. <https://doi.org/10.1159/000092769>.
23. Pisanu, C., Franconi, F., Gessa, G. L., Mamei, S., Pisanu, G. M., Campesi, I., ... Agabio, R. (2019). Sex differences in the response to opioids for pain relief: A systematic review and meta-analysis. *Pharmacological research*, *148*, 104447. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104447>.
24. Ifudu, O., Uribarri, J., Rajwani, I., Vlacich, V., Reydel, K., Delosreyes, G., & Friedman, E. A. (2001). Gender modulates responsiveness to recombinant erythropoietin. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, *38*(3), 518-522. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2001.26842>.
25. LeGates, T. A., Kvarn, M. D., & Thompson, S. M. (2019). Sex differences in antidepressant efficacy. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *44*(1), 140-154. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0156-z>.

26. Hausmann, J., & Blumenstein, I. (2015). Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Behandlungsrealität von Patientinnen und Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) [Gender differences and inflammatory bowel disease]. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 53(8), 774-778. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1553499>.
27. Regitz-Zagrosek V. (2012). Sex and gender differences in health. Science & Society Series on Sex and Science. *EMBO reports*, 13(7), 596-603. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.87>
28. Oertelt-Prigione, S., & Hiltner, S. (2019). Medizin: Gendermedizin im Spannungsfeld zwischen Zukunft und Tradition. In Beate Kortendiek, Birgit Riegraf & Katja Sabisch (Hrsg.), *Handbuch Interdisziplinäre Geschlechterforschung*, 741-750. Wiesbaden: Springer Fachmedien. <https://doi.org/10.1007/978-3-658-12496-0>
29. Franzini, L., Ardigo, D., Cavalot, F., Miccoli, R., Rivellese, A. A., Trovati, M., ... Vaccaro, O. (2013). Women show worse control of type 2 diabetes and cardiovascular disease risk factors than men: results from the MIND.IT Study Group of the Italian Society of Diabetology. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 23(3), 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.12.003>.
30. Appelman, Y., van Rijn, B. B., Ten Haaf, M. E., Boersma, E., & Peters, S. A. (2015). Sex differences in cardiovascular risk factors and disease prevention. *Atherosclerosis*, 241(1), 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.027>.
31. Broni, E. K., Ndumele, C. E., Echouffo-Tcheugui, J. B., Kalyani, R. R., Bennett, W. L., & Michos, E. D. (2022). The diabetes-cardiovascular connection in women: Understanding the known risks, outcomes, and implications for care. *Current diabetes reports*, 22(1), 11-25. <https://doi.org/10.1007/s11892-021-01444-x>.
32. Tsao, C. W., Aday, A. W., Almarzooq, Z. I., Alonso, A., Beaton, A. Z., Bittencourt, M. S., ... Commodore-Mensah Y. (2022). Heart disease and stroke

- statistics – 2022 Update: A report from the American heart association. *Circulation*, 145, 153-639. doi: 10.1161/CIR.0000000000001052.
33. Albrektsen, G., Heuch, I., Lochen, M. L., Thelle, D. S., Wilsgaard, T., Njolstad, I., & Bonnaa, K. H. (2016). Lifelong gender gap in risk of incident myocardial infarction: The tromso study. *JAMA internal medicine*, 176(11), 1673-1679. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.5451>.
34. Coughlan, J. J., Raber, L., Brugaletta, S., Kufner, S., Maeng, M., Jensen, L. O., ... Cassese, S. (2023). Sex differences in 10-year outcomes after percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents: Insights from the decade cooperation. *Circulation*, 147(7), 575-585. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.062049>.
35. Lichtman, J. H., Wang, Y., Jones, S. B., Leifheit-Limson, E. C., Shaw, L. J., Vaccarino, V., ... Curtis, J. P. (2014). Age and sex differences in inhospital complication rates and mortality after percutaneous coronary intervention procedures: evidence from the NCDR(®). *American heart journal*, 167(3), 376-383. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2013.11.001>.
36. Connelly, P. J., Currie, G., & Delles, C. (2022). Sex differences in the prevalence, outcomes and management of hypertension. *Current hypertension reports*, 24(6), 185-192. <https://doi.org/10.1007/s11906-022-01183-8>.
37. Kotseva, K., De Backer, G., De Bacquer, D., Ryden, L., Hoes, A., Grobbee, D., ... EUROASPIRE Investigators* (2019). Lifestyle and impact on cardiovascular risk factor control in coronary patients across 27 countries: Results from the European Society of Cardiology ESC-EORP EUROASPIRE V registry. *European journal of preventive cardiology*, 26(8), 824-835. <https://doi.org/10.1177/2047487318825350>.
38. Beale, A. L., Meyer, P., Marwick, T. H., Lam, C. S. P., & Kaye, D. M. (2018). Sex differences in cardiovascular pathophysiology: Why women are overrepresented in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation*, 138(2), 198-205. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034271>.

- 39.Керецман, А. О. (2015). Гендерні особливості захворюваності та поширеності хвороб органів травлення серед дорослого населення закарпатської області. *Здоров'я нації*, 1(33), 136-143.
- 40.Zucker, K. J. (2019). Adolescents with gender dysphoria: Reflections on some contemporary clinical and research issues. *Archives of sexual behavior*, 48(7), 1983-1992. <https://doi.org/10.1007/s10508-019-01518-8>.
- 41.Chan, K. N., Chang, W. C., Ng, C. M., Lee, H. C., Chan, S. I., Chiu, S. Y., ... Chen, E. Y. H. (2022). Sex differences in symptom severity, cognition and psychosocial functioning among individuals with at-risk mental state for psychosis. *Early intervention in psychiatry*, 16(1), 61-68. <https://doi.org/10.1111/eip.13131>.
- 42.Barajas, A., Ochoa, S., Obiols, J. E., & Lalucat-Jo, L. (2015). Gender differences in individuals at high-risk of psychosis: a comprehensive literature review. *The Scientific World Journal*, 2015, 430735. <https://doi.org/10.1155/2015/430735>.
- 43.Ayesa-Arriola, R., Setien-Suero, E., Neergaard, K. D., Belzunces, A. A., Contreras, F., van Haren, N. E. M., & Crespo-Facorro, B. (2018). Premorbid IQ subgroups in first episode non affective psychosis patients: Long-term sex differences in function and neurocognition. *Schizophrenia research*, 197, 370-377. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.12.006>.
- 44.Alberich, S., Fernandez-Sevillano, J., Gonzalez-Ortega, I., Usall, J., Saenz, M., Gonzalez-Fraile, E., & Gonzalez-Pinto, A. (2019). A systematic review of sex-based differences in effectiveness and adverse effects of clozapine. *Psychiatry research*, 280, 112506. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.112506>.
- 45.Sherin, J. E., & Nemeroff, C. B. (2011). Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues in clinical neuroscience*, 13(3), 263-278. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/jsherin>.
- 46.Newport, D. J., & Nemeroff, C. B. (2000). Neurobiology of posttraumatic stress disorder. *Current opinion in neurobiology*, 10(2), 211-218. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(00\)00080-5](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(00)00080-5).

47. Bremner, J. D., Elzinga, B., Schmahl, C., & Vermetten, E. (2008). Structural and functional plasticity of the human brain in posttraumatic stress disorder. *Progress in brain research*, *167*, 171-186. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)67012-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)67012-5).
48. Ramikie, T. S., & Ressler, K. J. (2018). Mechanisms of sex differences in fear and posttraumatic stress disorder. *Biological psychiatry*, *83*(10), 876-885. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.016>.
49. Gay, N. G., Wisco, B. E., Jones, E. C., & Murphy, A. D. (2020). Posttraumatic Stress Disorder Symptom Network Structures: A Comparison Between Men and Women. *Journal of traumatic stress*, *33*(1), 96-105. <https://doi.org/10.1002/jts.22470>.
50. Weinberger, A. H., Maciejewski, P. K., McKee, S. A., Reutenauer, E. L., & Mazure, C. M. (2009). Gender differences in associations between lifetime alcohol, depression, panic disorder, and posttraumatic stress disorder and tobacco withdrawal. *The American journal on addictions*, *18*(2), 140-147. <https://doi.org/10.1080/10550490802544888>.
51. Foa, E. B., & Street, G. P. (2001). Women and traumatic events. *The Journal of clinical psychiatry*, *62 Suppl 17*, 29-34.
52. Bisagno, V., & Cadet, J. L. (2014). Stress, sex, and addiction: potential roles of corticotropin-releasing factor, oxytocin, and arginine-vasopressin. *Behavioural pharmacology*, *25*(5-6), 445-457. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000049>
53. Helman, T. J., Headrick, J. P., Stapelberg, N. J. C., & Braidy, N. (2023). The sex-dependent response to psychosocial stress and ischaemic heart disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, *10*, 1072042. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1072042>.
54. Foradori, C. D., Weiser, M. J., & Handa, R. J. (2008). Non-genomic actions of androgens. *Frontiers in neuroendocrinology*, *29*(2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.10.005>.

55. Lucas-Herald, A. K., Alves-Lopes, R., Montezano, A. C., Ahmed, S. F., & Touyz, R. M. (2017). Genomic and non-genomic effects of androgens in the cardiovascular system: clinical implications. *Clinical science (London, England : 1979)*, *131*(13), 1405-1418. <https://doi.org/10.1042/CS20170090>.
56. Losel, R. M., Falkenstein, E., Feuring, M., Schultz, A., Tillmann, H. C., Rossol-Haseroth, K., & Wehling, M. (2003). Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiological reviews*, *83*(3), 965-1016. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2003>.
57. Luconi, M., Forti, G., & Baldi, E. (2002). Genomic and nongenomic effects of estrogens: molecular mechanisms of action and clinical implications for male reproduction. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, *80*(4-5), 369-381. [https://doi.org/10.1016/s0960-0760\(02\)00041-9](https://doi.org/10.1016/s0960-0760(02)00041-9).
58. Foradori, C. D., Weiser, M. J., & Handa, R. J. (2008). Non-genomic actions of androgens. *Frontiers in neuroendocrinology*, *29*(2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.10.005>.
59. Zhou, Z. X., Wong, C. I., Sar, M., & Wilson, E. M. (1994). The androgen receptor: an overview. *Recent progress in hormone research*, *49*, 249-274. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571149-4.50017-9>.
60. Bennett, N. C., Gardiner, R. A., Hooper, J. D., Johnson, D. W., & Gobe, G. C. (2010). Molecular cell biology of androgen receptor signalling. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *42*(6), 813-827. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.11.013>.
61. Farooq A. (2015). Structural and Functional Diversity of Estrogen Receptor Ligands. *Current topics in medicinal chemistry*, *15*(14), 1372-1384. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150413154841>.
62. Lu, C. L., & Herndon, C. (2017). New roles for neuronal estrogen receptors. *Neurogastroenterology and motility*, *29*(7), 10.1111/nmo.13121. <https://doi.org/10.1111/nmo.13121>.

63. Vrtacnik, P., Ostanek, B., Mencej-Bedrac, S., & Marc, J. (2014). The many faces of estrogen signaling. *Biochemia medica*, 24(3), 329-342. <https://doi.org/10.11613/BM.2014.035>.
64. Xu, Q., Jin, L., Wang, L., Tang, Y., Wu, H., Chen, Q., & Sun, L. (2024). The role of gonadal hormones in regulating opioid antinociception. *Annals of medicine*, 56(1), 2329259. <https://doi.org/10.1080/07853890.2024.2329259>.
65. Nilsson, S., & Gustafsson, J. Å. (2011). Estrogen receptors: therapies targeted to receptor subtypes. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 89(1), 44-55. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.226>.
66. Pihlajamaa, P., Sahu, B., & Janne, O. A. (2015). Determinants of Receptor- and Tissue-Specific Actions in Androgen Signaling. *Endocrine reviews*, 36(4), 357-384. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1034>.
67. Werner, R., & Holterhus, P. M. (2014). Androgen action. *Endocrine development*, 27, 28-40. <https://doi.org/10.1159/000363610>.
68. Zhang, L., Wu, S., Ruan, Y., Hong, L., Xing, X., & Lai, W. (2011). Testosterone suppresses oxidative stress via androgen receptor-independent pathway in murine cardiomyocytes. *Molecular medicine reports*, 4(6), 1183-1188. <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.539>.
69. Tostes, R. C., Carneiro, F. S., Carvalho, M. H., & Reckelhoff, J. F. (2016). Reactive oxygen species: players in the cardiovascular effects of testosterone. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 310(1), R1–R14. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00392.2014>.
70. Chen, Y. Q., Zhao, J., Jin, C. W., Li, Y. H., Tang, M. X., Wang, Z. H., ... Zhong, M. (2016). Testosterone delays vascular smooth muscle cell senescence and inhibits collagen synthesis via the Gas6/Axl signaling pathway. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 38(3), 60. <https://doi.org/10.1007/s11357-016-9910-5>.
71. Jones, T. H., & Kelly, D. M. (2018). Randomized controlled trials – mechanistic studies of testosterone and the cardiovascular system. *Asian journal of andrology*, 20(2), 120-130. https://doi.org/10.4103/aja.aja_6_18

72. Polo, P., Fajardo, G., Munoz-Reyes, J. A., Valenzuela, N. T., Belinchon, M., Figueroa, O., ... Pita, M. (2024). The role of exogenous testosterone and social environment on the expression of sociosexuality and status-seeking behaviors in young Chilean men. *Hormones and behavior*, *161*, 105522. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2024.105522/>.
73. Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in protein chemistry and structural biology*, *116*, 135-170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>.
74. Barakat, R., Oakley, O., Kim, H., Jin, J., & Ko, C. J. (2016). Extra-gonadal sites of estrogen biosynthesis and function. *BMB reports*, *49*(9), 488-496. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2016.49.9.141>.
75. Hoffmann, J. P., Liu, J. A., Seddu, K., & Klein, S. L. (2023). Sex hormone signaling and regulation of immune function. *Immunity*, *56*(11), 2472-2491. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.10.008>.
76. Hamilton, K. J., Hewitt, S. C., Arao, Y., & Korach, K. S. (2017). Estrogen Hormone Biology. *Current topics in developmental biology*, *125*, 109-146. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.12.005>.
77. Hankivsky O. (2012). Women's health, men's health, and gender and health: implications of intersectionality. *Social science & medicine (1982)*, *74*(11), 1712-1720. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2011.11.029>.
78. Angus, J. (2012). Gender, sex, and health research: developments and challenges. *The Canadian journal of nursing research = Revue canadienne de recherche en sciences infirmieres*, *44*(3), 3-5.
79. Heidari, S., Babor, T. F., De Castro, P., Tort, S., & Curno, M. (2016). Sex and Gender Equity in Research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. *Research integrity and peer review*, *1*, 2. <https://doi.org/10.1186/s41073-016-0007-6>.
80. Medzikovic, L., Azem, T., Sun, W., Rejali, P., Eskin, L., Rahman, S., ... Eghbali, M. (2023). Sex Differences in Therapies against Myocardial Ischemia-

- Reperfusion Injury: From Basic Science to Clinical Perspectives. *Cells*, 12(16), 2077. <https://doi.org/10.3390/cells12162077>.
81. Achour, B., Barber, J., & Rostami-Hodjegan, A. (2014). Expression of hepatic drug-metabolizing cytochrome p450 enzymes and their intercorrelations: a meta-analysis. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 42(8), 1349-1356. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.058834>.
82. Parkinson, A., Mudra, D. R., Johnson, C., Dwyer, A., & Carroll, K. M. (2004). The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inducibility in cultured human hepatocytes. *Toxicology and applied pharmacology*, 199(3), 193-209. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.01.010>.
83. Abadie-Viollon, C., Martin, H., Blanchard, N., Pekthong, D., Bachellier, P., Manton, G., ... Richert, L. (2010). Follow-up to the pre-validation of a harmonised protocol for assessment of CYP induction responses in freshly isolated and cryopreserved human hepatocytes with respect to culture format, treatment, positive reference inducers and incubation conditions. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 24(1), 346-356. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.05.021>.
84. Bernasconi, C., Pelkonen, O., Andersson, T. B., Strickland, J., Wilk-Zasadna, I., Asturiol, D., ... Coecke, S. (2019). Validation of in vitro methods for human cytochrome P450 enzyme induction: Outcome of a multi-laboratory study. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 60, 212-228. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.05.019>.
85. Terada, T., & Hira, D. (2015). Intestinal and hepatic drug transporters: pharmacokinetic, pathophysiological, and pharmacogenetic roles. *Journal of gastroenterology*, 50(5), 508-519. <https://doi.org/10.1007/s00535-015-1061-4>.
86. Oltra-Noguera, D., Mangas-Sanjuan, V., Gonzalez-Alvarez, I., Colon-Useche, S., Gonzalez-Alvarez, M., & Bermejo, M. (2015). Drug gastrointestinal absorption in rat: Strain and gender differences. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for*

- Pharmaceutical Sciences*, 78, 198-203.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.07.021>.
87. Madla, C. M., Gavins, F. K. H., Merchant, H. A., Orlu, M., Murdan, S., & Basit, A. W. (2021). Let's talk about sex: Differences in drug therapy in males and females. *Advanced drug delivery reviews*, 175, 113804.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.014>.
88. Mai, Y., Dou, L., Madla, C. M., Murdan, S., & Basit, A. W. (2019). Sex-Dependence in the effect of pharmaceutical excipients: Polyoxyethylated solubilising excipients increase oral drug bioavailability in male but not female rats. *Pharmaceutics*, 11(5), 228.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11050228>
89. Madla, C. M., Qin, Y., Gavins, F. K. H., Liu, J., Dou, L., Orlu, M., ... Basit, A. W. (2022). Sex differences in intestinal P-glycoprotein expression in Wistar versus sprague dawley rats. *Pharmaceutics*, 14(5), 1030.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051030>.
90. Bjornsson E. S. (2016). Hepatotoxicity by Drugs: The most common implicated agents. *International journal of molecular sciences*, 17(2), 224.
<https://doi.org/10.3390/ijms17020224>.
91. Thakkar, S., Li, T., Liu, Z., Wu, L., Roberts, R., & Tong, W. (2020). Drug-induced liver injury severity and toxicity (DILIst): binary classification of 1279 drugs by human hepatotoxicity. *Drug discovery today*, 25(1), 201-208.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.09.022>
92. Lee W. M. (1995). Drug-induced hepatotoxicity. *The New England journal of medicine*, 333(17), 1118-1127.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199510263331706>.
93. Grunhage, F., Fischer, H. P., Sauerbruch, T., & Reichel, C. (2003). Medikamenten - und fremdstoffbedingte Hepatotoxizität [Drug- and toxin-induced hepatotoxicity]. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 41(6), 565-578.
<https://doi.org/10.1055/s-2003-39650>.

94. Hutteroth T. H. (2005). Medikamenten-induzierte und toxische Leberschäden [Drug-induced and toxic liver diseases]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, 130 Suppl 5, S226-S228.
95. Calistri, L., Rastrelli, V., Nardi, C., Maraghelli, D., Vidali, S., Pietragalla, M., & Colagrande, S. (2021). Imaging of the chemotherapy-induced hepatic damage: Yellow liver, blue liver, and pseudocirrhosis. *World journal of gastroenterology*, 27(46), 7866-7893. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i46.7866>.
96. Кошурба, І. В., Гладких, Ф. В., Чиж, М. О., Белочкіна, І. В., & Рубльова, Т. В. (2022). Гепатотропні ефекти трикомпонентної противиразкової терапії та кріоекстракту плаценти: роль статевих чинників у ліпопероксидації. *Фізіологічний журнал*, 68(5), 25-32.
97. Pogozhykh, O., Prokoryuk, V., Figueiredo, C., & Pogozhykh, D. (2018). Placenta and placental derivatives in regenerative therapies: Experimental studies, history, and prospects. *Stem cells international*, 2018, 4837930. <https://doi.org/10.1155/2018/4837930>.
98. Ghoneum, M., & El-Gerbed, M. S. A. (2021). Human placental extract ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via regulating antioxidative and anti-inflammatory responses. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 88(6), 961-971. <https://doi.org/10.1007/s00280-021-04349-4>.
99. Волощук, Н. І. (2008). Рівень статевих гормонів як предиктор нефротоксичної дії диклофенаку натрію у самок та самців щурів. *Biomedical and biosocial anthropology*, 10, 142-147.
100. Волощук, Н. І. (2014). Вплив статі та різного рівня насиченості організму щурів статевими гормонами на функціональний стан нирок інтактних щурів. *Біофармацевтичний журнал*, 4(33), 50-55.
101. Волощук, Н. І. (2009). Статеві гормони як модулятори стану захисних систем слизової оболонки шлунку щурів. *Медична хімія*, 11(3), 43-47.
102. Волощук, Н. І. (2013). Вплив рівня тестостерону у самців щурів на гастротоксичну дію нестероїдних протизапальних засобів. *Медичні перспективи*, 18(2), 9-18.

103. Волощук, Н. І. (2008). Рівень статевих гормонів як предиктор нефротоксичної дії диклофенаку натрію у самок та самців щурів. *Biomedical and biosocial anthropology*, 10, 142-147.
104. Бігудяк, В. В. (2004). Відмороження та замерзання. У *Військова хірургія з хірургією надзвичайних ситуацій* (с. 130-139). Укрмедкнига.
105. Kuht, J. A., Woods, D., & Hollis, S. (2019). Case series of non-freezing cold injury: epidemiology and risk factors. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 165(6), 400-404. <https://doi.org/10.1136/jramc-2018-000992>.
106. Rasmussen, J. M., Cogbill, T. H., Borgert, A. J., Frankki, S. M., Kallies, K. J., Roberts, J. C., ... Waller, C. J. (2022). Epidemiology, Management, and Outcomes of Accidental Hypothermia: A Multicenter Study of Regional Care. *The American surgeon*, 88(6), 1062-1070. <https://doi.org/10.1177/0003134820984869>.
107. Petrone, P., Asensio, J. A., & Marini, C. P. (2014). Management of accidental hypothermia and cold injury. *Current problems in surgery*, 51(10), 417-431. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2014.07.004>.
108. Tipton, M., & Eglin, C. (2023). Non-freezing cold injury: A little-known big problem. *Experimental physiology*, 108(3), 329-330. <https://doi.org/10.1113/EP091139>.
109. Bennett, B. L., & Holcomb, J. B. (2017). Battlefield Trauma-Induced Hypothermia: Transitioning the Preferred Method of Casualty Rewarming. *Wilderness & environmental medicine*, 28(2S), S82-S89. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2017.03.010>.
110. Кравець, О. В., Єхалов, В. В., & Площенко, Ю. О. (2023). Прогнозування при локальній холодовій травмі. *Theoretical aspects of education development*. Materials of the 3th International scientific and practical conference (pp. 269-277). Warsaw, Poland. International Science Group.
111. Tyler, C. J., Reeve, T., & Cheung, S. S. (2015). Cold-induced vasodilation during single digit immersion in 0°C and 8°C water in men and women. *PloS one*, 10(4), e0122592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122592>.

112. Paal, P., Pasquier, M., Darocha, T., Lechner, R., Kosinski, S., Wallner, B., ... Brugger, H. (2022). Accidental Hypothermia: 2021 Update. *International journal of environmental research and public health*, 19(1), 501. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010501>.
113. Schmidt, D., Germano, A. M. C., & Milani, T. L. (2018). Effects of water immersion on sensitivity and plantar skin properties. *Neuroscience letters*, 686, 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.048>
114. Proctor-Brown, L., Hicks, R., Colmer, S., Guilfoyle, D., Dallap-Schaer, B., Johnson, A. L., & Tomlinson, J. (2018). Distal limb pathologic conditions in horses treated with sleeve-style digital cryotherapy (285 cases). *Research in veterinary science*, 121, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.09.008>.
115. Shenaq, D. S., & Gottlieb, L. J. (2017). Cold Injuries. *Hand clinics*, 33(2), 257-267. <https://doi.org/10.1016/j.hcl.2016.12.003>.
116. Heil, K., Thomas, R., Robertson, G., Porter, A., Milner, R., & Wood, A. (2016). Freezing and non-freezing cold weather injuries: a systematic review *British medical bulletin*, 117(1), 79-93. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldw001>.
117. Ingram, B. J., & Raymond, T. J. (2013). Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries. *Current sports medicine reports*, 12(2), 125-130. <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e3182877454>.
118. Norheim, A. J., Sullivan-Kwantes, W., Steinberg, T., Castellani, J., & Friedl, K. E. (2023). The classification of freezing cold injuries - a NATO research task group position paper. *International journal of circumpolar health*, 82(1), 2203923. <https://doi.org/10.1080/22423982.2023.2203923>.
119. Bush, J. S., Lofgran, T., & Watson, S. (2023). Trench Foot. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
120. Duong, H., Patel, G., & Holt, C. A. (2024). Hypothermia (Nursing). In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
121. Johnston, A. M., & Singleton, J. (2016). Cold feet. *BMJ (Clinical research ed.)*, 354, i4584. <https://doi.org/10.1136/bmj.i4584>.

122. Forbes, K. E., & Foster, P. (2017). An unusual case of an immersion hand presentation in a military signaller operating in the jungle in Belize. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 163(6), 422-424. <https://doi.org/10.1136/jramc-2017-000811>.
123. Hall, A., Sexton, J., Lynch, B., Boecker, F., Davis, E. P., Sturgill, E., ... King, B. (2018). Frostbite and Immersion Foot Care. *Military medicine*, 183(suppl_2), 168-171. <https://doi.org/10.1093/milmed/usy085>.
124. Козинець, Г. П., Олійник, Г. А., & Циганков, В. П. (2012). Замерзання, патогенез, лікування. *Медицина неотложных состояний*, 5, 24-28.
125. Brown, D. J., Brugger, H., Boyd, J., & Paal, P. (2012). Accidental hypothermia. *The New England journal of medicine*, 367(20), 1930-1938. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1114208>.
126. Малютіна, Н. В. (2016). Холодова травма: загальні принципи профілактики та лікування. *Журнал головної медичної сестри*, 2, 35-43.
127. Reuler J. B. (1978). Hypothermia: pathophysiology, clinical settings, and management. *Annals of internal medicine*, 89(4), 519-527. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-89-4-519>.
128. Rauch, S., Kompatscher, J., Clara, A., Öttl, I., Strapazzon, G., & Kaufmann, M. (2023). Critically buried avalanche victims can develop severe hypothermia in less than 60 min. *Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine*, 31(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s13049-023-01092-y>.
129. Zafren K. (2017). Out-of-Hospital Evaluation and Treatment of Accidental Hypothermia. *Emergency medicine clinics of North America*, 35(2), 261-279. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2017.01.003>.
130. Zaramo, T. Z., Green, J. K., & Janis, J. E. (2022). Practical Review of the Current Management of Frostbite Injuries. *Plastic and reconstructive surgery. Global open*, 10(10), e4618. <https://doi.org/10.1097/GOX.00000000000004618>.
131. Олійник, В. А. (2013). Патофізіологія холодового шоку. *Медицина неотложных состояний*, 8(55), 16-21.

132. Basit, H., Wallen, T. J., & Dudley, C. (2023). Frostbite. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
133. Haverkamp, F. J. C., Giesbrecht, G. G., & Tan, E. C. T. H. (2018). The prehospital management of hypothermia - An up-to-date overview. *Injury*, *49*(2), 149-164. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.11.001>.
134. Herity, B., Daly, L., Bourke, G. J., & Horgan, J. M. (1991). Hypothermia and mortality and morbidity. An epidemiological analysis. *Journal of epidemiology and community health*, *45*(1), 19-23. <https://doi.org/10.1136/jech.45.1.19>.
135. Mallet M. L. (2002). Pathophysiology of accidental hypothermia. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, *95*(12), 775-785. <https://doi.org/10.1093/qjmed/95.12.775>.
136. Lantry, J., Dezman, Z., & Hirshon, J. M. (2012). Pathophysiology, management and complications of hypothermia. *British journal of hospital medicine (London, England : 2005)*, *73*(1), 31-37. <https://doi.org/10.12968/hmed.2012.73.1.31>.
137. Imray, C., Grieve, A., Dhillon, S., & Caudwell Xtreme Everest Research Group (2009). Cold damage to the extremities: frostbite and non-freezing cold injuries. *Postgraduate medical journal*, *85*(1007), 481-488. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2008.068635>.
138. Бойко, В. В., Миловидова, А. Э., & Яновская, Л. Г. (2010). Изучение морфологических особенностей в тканях экспериментальных животных при моделировании холодовой травмы. *Вісник морфології*, *16*(3), 526-529.
139. Thorsen, K., Ringdal, K. G., Strand, K., Soreide, E., Hagemo, J., & Soreide, K. (2011). Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury. *The British journal of surgery*, *98*(7), 894-907. <https://doi.org/10.1002/bjs.7497>.
140. Mikhail J. (1999). The trauma triad of death: hypothermia, acidosis, and coagulopathy. *AACN clinical issues*, *10*(1), 85-94.

141. 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. *Experimental physiology*, *102*(7), 854-865. <https://doi.org/10.1113/EP086186>.
142. Eglin, C. M., Wright, J., Maley, M. J., Hollis, S., Massey, H., Montgomery, H., & Tipton, M. J. (2023). The peripheral vascular responses in non-freezing cold injury and matched controls. *Experimental physiology*, *108*(3), 420-437. <https://doi.org/10.1113/EP090721>.
143. Frank, S. M., Raja, S. N., Wu, P. K., & el-Gamal, N. (1997). Alpha-adrenergic mechanisms of thermoregulation in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *813*, 101-110. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51679.x>.
144. Su, C. W., Lohman, R., & Gottlieb, L. J. (2000). Frostbite of the upper extremity. *Hand clinics*, *16*(2), 235-247.
145. Reingardiene D. (2003). Susalimas [Hypothermia]. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *39*(1), 90-97.
146. Hodges, G. J., Zhao, K., Kosiba, W. A., & Johnson, J. M. (2006). The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans. *The Journal of physiology*, *574*(Pt 3), 849-857. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.109884>.
147. Anand, P., Privitera, R., Yiangou, Y., Donatien, P., Birch, R., & Misra, P. (2017). Trench foot or non-freezing cold injury as a painful vaso-neuropathy: Clinical and skin biopsy assessments. *Frontiers in neurology*, *8*, 514. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00514>.
148. Connor R. R. (2014). Update: cold weather injuries, active and reserve components, U.S. Armed Forces, July 2009-June 2014. *MSMR*, *21*(10), 14-19.
149. Волченко, С. Ю., Полюх, І. І., & Добровольський, Л. П. (2007). Деякі питання з практики лікування хворих із відмороженнями. *Шпитальна хірургія*, *2*, 81- 85.
150. Blasco Marino, R., & Soteras Martinez, I. (2023). Clinical management of accidental hypothermia. Manejo clinico de la hipotermia accidental.

Emergencias : revista de la Sociedad Espanola de Medicina de Emergencias, 35(1), 69-71.

151. Shtrygol, S., Tovchiga, O., Kudina, O., Koiro, O., Yudkevich, T., & Gorbach, T. (2022). The effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs with different mechanisms of action on the body temperature and cyclooxygenase pathway of the arachidonic acid cascade on the model of acute general cooling (air hypothermia) in rats. *Ceska a Slovenska farmacie : casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti*, 71(5), 214-223.
152. Pratt, M., Mahmood, F., & Kirchhof, M. G. (2021). Pharmacologic Treatment of Idiopathic Chilblains (Pernio): A Systematic Review. *Journal of cutaneous medicine and surgery*, 25(5), 530-542. <https://doi.org/10.1177/1203475421995130>
153. Олійник, Е. А. (2011). Обґрунтування напрямків консервативного лікування хворих з холодовою травмою з урахуванням індексу тяжкості ушкодження. *Експериментальна і клінічна медицина*, 1, 151-154.
154. Домар, Н. А., & Штриголь, С. Ю. (2010). Пошук потенційних фрігопротекторів серед водорозчинних і ліпосомальних форм кверцетину. *Український біофармацевтичний журнал*, 2(7), 34-38.
155. Місюрьовата, С. В. (2002). Вивчення гепатопротекторної та антиоксидантної активностей глюкозаміну гідрохлориду та його похідних при гострому ураженні печінки тетрахлорметаном. *Вісник фармації*, 3, 74-77.
156. Ель Аараж Ахмад, Зупанець, І. А., & Шебеко, С. К. (2012). Вплив комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів. *Клінічна фармація*, 16(3), 24-27.
157. Leloir, L. F., & Cardini, C. E. (1953). The biosynthesis of glucosamine. *Biochimica et biophysica acta*, 12(1-2), 15-22. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(53\)90119-x](https://doi.org/10.1016/0006-3002(53)90119-x).
158. Purchase, E. R., & Braun, C. E. (1946). d-Glucosamine hydrochloride. *Organic syntheses; an annual publication of satisfactory methods for the*

- preparation of organic chemicals*, 26, 36.
<https://doi.org/10.1002/0471264180.os026.12>
159. Dahmer, S., Robert, M. S. (2008). Glucosamine. *American Family Physician*, 78(4), 471-476.
160. da Camara, C. C., & Dowless, G. V. (1998). Glucosamine sulfate for osteoarthritis. *The Annals of pharmacotherapy*, 32(5), 580-587.
<https://doi.org/10.1345/aph.17214>.
161. Setnikar, I., Cereda, R., Pacini, M. A., & Revel, L. (1991). Antireactive properties of glucosamine sulfate. *Arzneimittel-Forschung*, 41(2), 157-161.
162. Reichelt, A., Förster, K. K., Fischer, M., Rovati, L. C., & Setnikar, I. (1994). Efficacy and safety of intramuscular glucosamine sulfate in osteoarthritis of the knee. A randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Arzneimittel-Forschung*, 44(1), 75-80.
163. Ma, Q., & Gao, X. (2019). Categories and biomanufacturing methods of glucosamine. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(19), 7883-7889.
<https://doi.org/10.1007/s00253-019-10084-x>.
164. Zeisel S. H. (1999). Regulation of "nutraceuticals". *Science (New York, N.Y.)*, 285(5435), 1853-1855. <https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1853>.
165. Russell, A. S., Aghazadeh-Habashi, A., & Jamali, F. (2002). Active ingredient consistency of commercially available glucosamine sulfate products. *The Journal of rheumatology*, 29(11), 2407-2409.
166. Lems, W. F., & Bijlsma, J. W. (2006). Effectiviteit van voedingssupplementen bij artrose: de twijfel blijft [Effectiveness of dietary supplements in patients with osteoarthritis: the doubt persists]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*, 150(20), 1105-1107.
167. Sodhi, H., & Panitch, A. (2020). Glycosaminoglycans in Tissue Engineering: A Review. *Biomolecules*, 11(1), 29. <https://doi.org/10.3390/biom11010029>.
168. Xing, R., Liu, S., Guo, Z., Yu, H., Li, C., Ji, X., ... Li, P. (2006). The antioxidant activity of glucosamine hydrochloride in vitro. *Bioorganic &*

- medicinal chemistry*, 14(6), 1706-1709.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.10.018>.
169. Meulyzer, M., Vachon, P., Beaudry, F., Vinardell, T., Richard, H., Beauchamp, G., & Laverty, S. (2008). Comparison of pharmacokinetics of glucosamine and synovial fluid levels following administration of glucosamine sulphate or glucosamine hydrochloride. *Osteoarthritis and cartilage*, 16(9), 973-979. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2008.01.006>.
170. Saengnipanthkul, S., Waikakul, S., Rojanasthien, S., Totemchokchyakarn, K., Srinkapaibulaya, A., Cheh Chin, T., ... Lwin, M. (2019). Differentiation of patented crystalline glucosamine sulfate from other glucosamine preparations will optimize osteoarthritis treatment. *International journal of rheumatic diseases*, 22(3), 376-385. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13068>.
171. Foot, M., & Mulholland, M. (2005). Classification of chondroitin sulfate A, chondroitin sulfate C, glucosamine hydrochloride and glucosamine 6 sulfate using chemometric techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 38(3), 397-407. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.01.026>.
172. Roman-Blas, J. A., Mediero, A., Tardío, L., Portal-Nunez, S., Gratal, P., Herrero-Beaumont, G., & Largo, R. (2017). The combined therapy with chondroitin sulfate plus glucosamine sulfate or chondroitin sulfate plus glucosamine hydrochloride does not improve joint damage in an experimental model of knee osteoarthritis in rabbits. *European journal of pharmacology*, 794, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.11.015>.
173. Зупанець, К. О., Попов, С. Б., & Отрішко, І. А. (2009). Дослідження токсичних та протизапальних властивостей композиції на основі аміноцукрів – похідних глюкозаміну та флавоноїду кверцетину. *Клінічна фармація*, 13(4), 50-53.
174. Попов, С. Б., Шебеко, С. К., Зупанець, К. О., Отрішко, І. А., & Безугла, Н. П. (2007). *Модифікація фармакологічних властивостей нестероїдних протизапальних препаратів аміноцукром глюкозаміну гідрохлоридом: Методичні рекомендації*. Харків.

175. Sawitzke, A. D., Shi, H., Finco, M. F., Dunlop, D. D., Harris, C. L., Singer, N. G., ... Clegg, D. O. (2010). Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulphate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-year results from GAIT. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(8), 1459-1464. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.120469>.
176. Gregori, D., Giacobelli, G., Minto, C., Barbeta, B., Gualtieri, F., Azzolina, D., ... Rovati, L. C. (2018). Association of pharmacological treatments with long-term pain control in patients with knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 320(24), 2564-2579. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19319>.
177. Towheed, T. E., & Anastassiades, T. (2007). Glucosamine therapy for osteoarthritis: an update. *The Journal of rheumatology*, 34(9), 1787-1790.
178. Бондарев, Е. В., & Штрыголь, С. Ю. (2016). Антигипотермические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы. *Вестник фармации*, 3(73), 92-97.
179. Зупанець І. А., Ткаченко К. М., Отрішко І. А., & Грінцов Є. Ф. (2014). Дослідження протизапальної активності композицій на основі доксицикліну гідрохлориду і глюкозаміну гідрохлориду. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*, 9(3), 37-40.
180. Зупанець, І. А., Ткаченко, К. М., Отрішко, І. А., & Шебеко, С. К. (2016). Вплив композиції на основі комбінації доксицикліну та глюкозаміну на біохімічні показники щурів за умов експериментального остеоартрозу. *Теорія та експеримент*, 1(153), 5-8.
181. Murphy, G., & Lee, M. H. (2005). What are the roles of metalloproteinases in cartilage and bone damage? *Annals of the rheumatic diseases*, 64 Suppl 4(Suppl 4), iv44-iv47. <https://doi.org/10.1136/ard.2005.042465>.
182. Bannuru, R. R., Schmid, C. H., Kent, D. M., Vaysbrot, E. E., Wong, J. B., & McAlindon, T. E. (2015). Comparative effectiveness of pharmacologic interventions for knee osteoarthritis: a systematic review and network meta-

- analysis. *Annals of internal medicine*, 162(1), 46-54.
<https://doi.org/10.7326/M14-1231>.
183. Nagaoka, I., Tsuruta, A., & Yoshimura, M. (2019). Chondroprotective action of glucosamine, a chitosan monomer, on the joint health of athletes. *International journal of biological macromolecules*, 132, 795-800.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.234>.
184. Яковлєва Л. В., Ковальова Є. О., Кошова О. Ю. (2014). Вплив глюкозаміну гідрохлориду на вікову інволюцію передміхурової залози (с. 148-149). *Фармакоеконіміка в Україні: стан та перспективи розвитку* : - матеріали VII наук.–практ. Internet– конф. Видавництво НФаУ.
185. Туляков, В. О., Зупанець, К. О., & Шебеко, С. К. (2009). Фармакологічні властивості глюкозаміну: мембраностабілізуючі, протизапальні, антиоксидантні і імунотропні. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2(9), 3-8.
186. Ma, L., Rudert, W. A., Harnaha, J., Wright, M., Machen, J., Lakomy, R., ... Giannoukakis, N. (2002). Immunosuppressive effects of glucosamine. *The Journal of biological chemistry*, 277(42), 39343-39349.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M204924200>.
187. Шебеко, С. К., Зупанець І. А., & Шаламай А. С. (2017). Дослідження впливу глюкваміну на перебіг гломерулонефриту з нирковою недостатністю в експерименті. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 6(56), 66-71.
188. Зупанець, І. А., Шебеко, С. К., & Шаламай, А. С. (2018). Експериментальне дослідження ефективності глюкваміну при тубулярному ураженні нирок. *Український біофармацевтичний журнал*, 2(55), 56-60.
189. Зупанець, І. А., Вєтрова, К. В., & Сахарова, Т. С. (2014). Корекція доксорубіциніндукованої гепатотоксичності похідними глюкозаміну та їх комбінаціями з кверцетином в експерименті на щурах. *Клінічна фармація*, 2, 4-9.

190. Шебеко, С. К. (2017). Порівняльне експериментальне дослідження нефропротекторних властивостей похідних глюкозаміну у комбінації з кверцетином. *Український біофармацевтичний журнал*, 5(52), 40-44. doi.org/10.24959/ubphj.17.1394.
191. Шебеко, С. К., Зупанець, І. А., & Шаламай А. С. (2018). Експериментальне дослідження ефективності Глюкваміну при тубулярному ураженні нирок. *Український біофармацевтичний журнал*, 2(55), 56-60. doi.org/10.24959/ubphj.18.170.
192. Stumpf, J. L., & Lin, S. W. (2006). Effect of glucosamine on glucose control. *The Annals of pharmacotherapy*, 40(4), 694-698. https://doi.org/10.1345/aph.1E658.
193. Salazar, J., Bello, L., Chavez, M., Anez, R., Rojas, J., & Bermudez, V. (2014). Glucosamine for osteoarthritis: biological effects, clinical efficacy, and safety on glucose metabolism. *Arthritis*, 2014, 432463. https://doi.org/10.1155/2014/432463.
194. Жегунов, Г. Ф., & Жегунова, Т. П. (1999). Действие глюкозамина на транспорт аминокислот и интенсивность синтеза белков в клетках печени при моделировании воспаления. *Український біохімічний журнал*, 3(71), 116-118.
195. Зупанець, І. А., & Зимин, С. М. (2014). Место хондропротекторов в терапии остеоартроза. *Annals of Mechnikov Institute*, 2, 87-91.
196. Chen, J. T., Chen, C. H., Horng, C. T., Chien, M. W., Lu, D. W., Liang, J. B., ... Chen, Y. H. (2006). Glucosamine sulfate inhibits proinflammatory cytokine-induced icam-1 production in human conjunctival cells in vitro. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 22(6), 402-416. https://doi.org/10.1089/jop.2006.22.402.
197. Зупанець, І. А., Попов, С. Б., & Шебеко, С. К. (2004). Динаміка вмісту ендogenous N-ацетилглюкозаміну при запально-деструктивних процесах

- різної етіології та під впливом експериментальної терапії. *Клінічна фармація*, 8(4), 34-37.
198. Стефанов, О. В. (Ред.) (2001). *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. Рекомендації*. Авіцена.
199. Кожем'якін, Ю. М., Хромов, О. С., Філоненко, М. А., & Сайфетдінова, Г. А. (2002). *Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними*. Державний фармакологічний центр МОЗ України.
200. Западнюк, И. П., Западнюк, Б. В., Западнюк, В. И., & Захария, Е. А. (1983). *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. Вища школа.
201. Бондарев, Є. В., Штриголь, С. Ю., Дроговоз, С. М., & Щокіна, К. Г. (2018). *Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фригопротекторними властивостями : методичні рекомендації*. НФаУ.
202. Волощук, Н. І. (2011). *Статеві чинники в формуванні фармакологічної активності та токсичності сучасних нестероїдних протизапальних засобів*. [Автореферат дис. д-ра. мед. наук., ДУ «Інститут фармакології та токсикології»].
203. Резников, А. Г. (1982). *Половые гормоны и дифференциация мозга*. Наукова думка.
204. Ткаченко, М. М., Сагач, В. Ф., & Базілюк, О. В. (2005). Вікові особливості змін скорочувальних судинних реакцій і вміст вільних радикалів кисню та метаболітів оксиду азоту у мишей лінії BALB/c за умов перебування у зоні відчуження. *Фізіологічний журнал*, 51(3). 32-41. [https://fz.kiev.ua/journals/2005_V.51/Fiziologichnyi%20Zhurnal%2051\(3\)_2005/Fiziologichnyi%20Zhurnal%2051\(3\)_2005_32-41.pdf](https://fz.kiev.ua/journals/2005_V.51/Fiziologichnyi%20Zhurnal%2051(3)_2005/Fiziologichnyi%20Zhurnal%2051(3)_2005_32-41.pdf)
205. Мельник, А. В. (2017). Статеві особливості рівня гідроген сульфід у сироватці крові щурів. *Вісник морфології*, 1(23), 7-9.
206. Байляк, М. М., Семчишин, Г. М., & Лушак, В. І. (2006). Участь каталази і супероксиддисмутази у відповіді *Saccharomyces cerevisiae* на дію

- пероксида водню в експоненційній фазі росту. *Український біохімічний журнал*, 78(2), 79-85.
207. Fukui, T., Ishizaka, N., Rajagopalan, S., Laursen, J. B., Capers, Q., 4th, Taylor, W. R., ... Griending, K. K. (1997). p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circulation research*, 80(1), 45-51. <https://doi.org/10.1161/01.res.80.1.45>
208. Мельник, А. В. (2017). *Статеві особливості метаболізму сірковмісних амінокислот і гідроген сульфїду та їх зв'язок зі станом серцево-судинної системи (експериментальне дослідження)*. [Автореферат дис. д-ра. мед. наук., ДУ «Інститут геронтології»].
209. Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 116, 135-170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>.
210. Tsialtas, I., Georgantopoulos, A., Karipidou, M. E., Kalousi, F. D., Karra, A. G., Leonidas, D. D., & Psarra, A. G. (2021). Anti-Apoptotic and Antioxidant Activities of the Mitochondrial Estrogen Receptor Beta in N2A Neuroblastoma Cells. *International journal of molecular sciences*, 22(14), 7620. <https://doi.org/10.3390/ijms22147620>.
211. Деримедвідь, Л. В., & Вереїтинова, В. П. (2018). Комбіновані хондропротектори при лікуванні остеоартриту. *Боль. Суставы. Позвоночник*, 8(1), 31-36.
212. Schlagenhauf, P., Chen, L. H., Wilson, M. E., Freedman, D. O., Tchong, D., Schwartz, E., ... GeoSentinel Surveillance Network (2010). Sex and gender differences in travel-associated disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50(6), 826-832. <https://doi.org/10.1086/650575>.
213. Koutsavlis, A. T., & Kosatsky, T. (2003). Environmental-temperature injury in a Canadian metropolis. *Journal of environmental health*, 66(5), 40-45.

214. Fabian, J. C., Taljaard, M., & Perry, J. J. (2017). A retrospective cohort study examining treatments and operative interventions for frostbite in a tertiary care hospital. *CJEM*, *19*(2), 88-95. <https://doi.org/10.1017/cem.2016.372>.
215. Endorf, F. W., & Nygaard, R. M. (2021). High Cost and Resource Utilization of Frostbite Readmissions in the United States. *Journal of burn care & research : official publication of the American Burn Association*, *42*(5), 857-864. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irab076>.
216. Bender, D., Tweer, S., Werdin, F., Rothenberger, J., Daigeler, A., & Held, M. (2020). The acute impact of local cooling versus local heating on human skin microcirculation using laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, *46*(1), 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.03.009>.
217. Golant, A., Nord, R. M., Paksima, N., & Posner, M. A. (2008). Cold exposure injuries to the extremities. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, *16*(12), 704-715. <https://doi.org/10.5435/00124635-200812000-00003>.
218. Bondariev, Y. V., Shtryhol, S. Y., Drohovozy, S. M., & Larianovska, Y. B. (2018). Effect of glucosamine and acetylsalicylic acid preparations on the skin histostructure after acute cold trauma. *Zaporozhye medical journal [Internet]*, *13*. Available from: <http://zmj.zsmu.edu.ua/article/view/135381>. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.4.135381>
219. Волощук, Н. І., & Юхимчук, А. В. (2023). Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, *17*(4), 248-254.
220. Yuhimchuk, A. V., Voloshchuk, N. I., Shtrygol', S. Yu., Nefodov, O. O., Piliponova, V. V., Oliinyk, Yu. M., Tepla, A. M., & Nefodova, O. O. (2023). Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury. *World of Medicine and Biology*, *4*(86), 243-247. doi: 10.26724/2079-8334-2023-4-86-243-247.

221. Vardon, F., Mrozek, S., Geeraerts, T., & Fourcade, O. (2016). Accidental hypothermia in severe trauma. *Anaesthesia, critical care & pain medicine*, 35(5), 355-361. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2016.05.001>.
222. Ohbe, H., Isogai, S., Jo, T., Matsui, H., Fushimi, K., & Yasunaga, H. (2019). Extracorporeal membrane oxygenation improves outcomes of accidental hypothermia without vital signs: A nationwide observational study. *Resuscitation*, 144, 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2019.08.04>.
223. Kapelka, I., Shtrygol, S., Koïro, 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. *Die Pharmazie*, 76(7), 313-316. <https://doi.org/10.1691/ph.2021.1571>.
224. Gao, Y., Wang, F., Zhou, W., & Pan, S. (2021). Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite. *European journal of radiology*, 137, 109605. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2021.109605>.
225. Serrat, M. A., King, D., & Lovejoy, C. O. (2008). Temperature regulates limb length in homeotherms by directly modulating cartilage growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(49), 19348–19353. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803319105>.
226. Волощук, Н. І., & Юхимчук, А. В. (2023). Статевий диморфізм змін мікроциркуляції шкіри щурів на тлі гострої холодової травми. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. *Експериментальна медицина*, 4(98), 21-27. <https://doi.org/10.25040/ecpb2023.04.021>.
227. Moreau K. L. (2018). Intersection between gonadal function and vascular aging in women. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 125(6), 1881-1887. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00117.2018>.
228. Hristov, K. L., Parajuli, S. P., Provence, A., Rovner, E. S., & Petkov, G. V. (2017). Nongenomic modulation of the large conductance voltage- and Ca²⁺-activated K⁺ channels by estrogen: A novel regulatory mechanism in human detrusor smooth muscle. *Physiological reports*, 5(14), e13351. <https://doi.org/10.14814/phy2.13351>.

229. Teoh, J. P., Li, X., Simoncini, T., Zhu, D., & Fu, X. (2020). Estrogen-Mediated Gaseous Signaling Molecules in Cardiovascular Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 31(10), 773-784. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.06.001>
230. Xiang, D., Liu, Y., Zhou, S., Zhou, E., & Wang, Y. (2021). Protective Effects of Estrogen on Cardiovascular Disease Mediated by Oxidative Stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 5523516. <https://doi.org/10.1155/2021/5523516>.
231. Allais, G., Chiarle, G., Sinigaglia, S., Airola, G., Schiapparelli, P., & Benedetto, C. (2020). Gender-related differences in migraine. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 41(Suppl 2), 429-436. <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04643-8>.
232. Юхимчук, А.В., & Волощук, Н.І. (2023). Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегатний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми. *Перспективи та інновації науки (серія «Медицина»)*, 16(34), 1024-1035. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1024-1035](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1024-1035).
233. Волощук, Н. І., Юхимчук, А. В., & Штриголь, С. Ю. (2023). Морфологічні зміни шкіри самців та самок щурів на тлі гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. *Морфологія*, 17(4), 6-13. <https://morphology.dmu.ua/pro-zurnal/arhiv/2023-vol-17-4>
234. Бондарев, Є. В., Штриголь, С. Ю. Зупанець, І. А. & Отрішко І. А. (2017). Національний фармацевтичний університет Агрегація тромбоцитів під впливом препаратів глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти при гострій холодовій травмі. *Клінічна фармація*, 21(1), 50-56.
235. Бондарев, Е. В. (2015). Влияние глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты на показатели углеводного обмена при острой холодовой травме у крыс. *Актуальные вопросы образования, науки и*

производства в фармации, материалы республиканской научно-практической конференции (с международным участием). Ташкент.

236. Бондарев, Є. В., & Штриголь, С. Ю. (2015). Експериментальний аналіз ролі адрено і холінорецепторів у фригопротекторній дії глюкозаміну гідрохлориду. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*, матеріали VIII науково-практичної конференції. Харків.
237. Бондарев, Є. В. (2018). Фригопротекторні та антиоксидантні властивості препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти в умовах гострої локальної холодової травми. *Український біофармацевтичний журнал*, 1(54), 18-24.

ДОДАТКИ

Додаток А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Волощук, Н. І. & Юхимчук, А. В. (2023). Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(4), 248-254. <https://doi.org/10.33250/17.04.248>. **(Фахове видання України).**

Волощук Н.І. – формулювання наукового напрямку статті, допомога при узагальненні отриманих результатів та висновків.

2. Юхимчук, А. В. & Волощук, Н. І. (2023). Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегатний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми. *Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»)*, 16(34), 1024-1035. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)-1024-1035](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34)-1024-1035). **(Фахове видання України).**

Волощук Н.І. – допомога в роботі над літературними джерелами, узагальнення отриманих результатів.

3. Yuhimchuk, A. V., Voloshchuk, N. I., Shtrygol' S. Yu., Nefodov, O. O., Piliponova, V. V., Oliinyk, Yu., Tepla, A. M. & Nefodova, O. O. (2023). Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury. *World of Medicine and Biology*, 4, 243-247. DOI:10.26724/2079-8334-2023-4-86-243-247. **(Фахове видання України. Видання включено до міжнародної наукометричної бази Web of Science)**

Волощук Н.І. – аналіз літературних джерел, оцінка та обговорення результатів;

Штриголь С.Ю. – допомога в формулюванні обсягу досліджень для даної статті, висновків та подальших досліджень;

Нефьодов О.О. - допомога в постановці експерименту та отриманні матеріалу для дослідження;

Піліпонова В.В. – допомога в обробці отриманих даних та їх інтерпретації;

Олійник Ю.М. –допомога в виконанні біохімічних досліджень;

Тепла А.М. – допомога в оформленні та поданні статті до друку;
Нефьодова О.О. – консультативна допомога в інтерпретації отриманих даних та їх систематизації.

4. Волощук, Н. І., Юхимчук, А. В. & Штриголь, С. Ю. (2023). Морфологічні зміни шкіри самців та самок щурів на тлі гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом. *Морфологія*, 17(4), 6-13. <https://morphology.dmu.ua/pro-zurnal/arhiv/2023-vol-17-4>. **(Фахове видання України).**

Волощук Н.І. – визначення тематики публікації, допомога при узагальненні отриманих результатів та висновків;

Штриголь С. Ю. – консультативна допомога при розробці наукового напрямку статті, аналізі результатів і формулюванні висновків.

5. Волощук, Н. І., & Юхимчук, А. В. (2023). Статевий диморфізм змін мікроциркуляції шкіри щурів на тлі гострої холодової травми. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. Експериментальна медицина*, 4(98), 21-27. <https://doi.org/10.25040/ecpb2023.04.021>. **(Фахове видання України).**

Волощук Н.І. – допомога у визначенні теми, мети та обсягу матеріалу, оцінка отриманих результатів, узагальненні отриманих результатів та висновків.

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

6. Юхимчук, А. В. & Цигалко, К. Д. (2021). Статеві чинники розвитку експериментальної гострої холодової травми та захисної дії глюкозаміну. *Матеріали XIX науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2021»*, м. Вінниця, 15-17 квітня 2021 р., (с. 545-546).
7. Юхимчук, А. В. & Волощук Н. І. (2021). Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан периферичного кровообігу після гострої холодової травми у самців та самок щурів. *Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину»*, м. Вінниця, ТОВ «Твори», 12-13 листопада 2021 р., (с. 238-240).
8. Юхимчук, А. В. (2022). Статеві відмінності продукції нітроген монооксиду та гідроген сульфід у інтактних щурів. *Збірник тез доповідей 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022»*, м. Запоріжжя, 17 травня 2022 р.,(с. 74-75).
9. Юхимчук, А. В., Волощук. Н. І. & Штриголь, С. Ю. (2023). Вплив глюкозаміну на стан системи згортання крові у самців та самок щурів за гострої холодової травми. *Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Клінічна фармакологія сьогодні: шляхи максимальної допомоги лікарській спеціальності»*, м. Вінниця, 9-10 листопада 2023 р., (с. 170-172).

ДОДАТОК Б

Акти впровадженнь

Додаток Б1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи Тернопільського
 національного медичного університету імені
 І.Я. Горбачевського,
 Заслужений діяч науки і техніки України,
 доктор біологічних наук, проф. Кліщ І.М.

„ 29 ” _____ 20 23 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Юхимчук Алла Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна, професор Штриголь Сергій Юрійович.
3. **Джерела інформації:**
 1. Yuhimchuk A. V., Voloshchuk N. I., Shtrygol' S. Yu., et al. Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury // World of medicine and biology / 2023 №4(86), P. 243-247
 2. Волощук Н.І., Юхимчук А.В. Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2023. – Т.17, №4. – С. 248-254
 3. Юхимчук А.В., Волощук Н.І. Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегантний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми // Перспективи та інновації науки. – 2023. - №16(34). – С. 1024-1035.

Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського з 01.09.2023 р.

5. Результат впровадження: отримана інформація сприяє поглибленню знань про особливості судинних реакцій у особин різної статі у відповідь на вплив екстремально низьких температур та фригопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду. Інформація щодо статі-індукованих механізмів в патогенезі холодової травми та її корекції доповнить існуючі уявлення в цьому напрямку та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні розділів «Загальна фармакологія» та «Засоби, що впливають на виконавчі органи».

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, протокол № 15 від 29 грудня 2023 р.

Відповідальний за впровадження: _____ проф. О.М. Олещук

Додаток Б2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи
Фізико-хімічного інституту ім. О.В.
Богатського НАН України

Кириченко Т.І.

15 січня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції для впровадження:** Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)
- 2. Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Юхимчук Алла Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна, професор Штриголь Сергій Юрійович.

3. Джерела інформації:

1. Yuhimchuk A. V., Voloshchuk N. I., Shtrygol' S. Yu., et al. Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury // World of medicine and biology. - 2023 №4(86), P. 243-247
2. Волощук Н.І., Юхимчук А.В. Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2023. – Т.17, №4. – С. 248-254
3. Юхимчук А.В., Волощук Н.І. Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегантний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми // Перспективи та інновації науки. – 2023. - №16(34). – С. 1024-1035.

Де і коли впроваджено: у науковий процес лабораторії молекулярної фармакології та медицини з „10” січня 2024 р

5. Результат впровадження: отримана інформація сприяє поглибленню знань про особливості судинних реакцій у особин різної статі у відповідь на вплив екстремально низьких температур та фригопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні лабораторії молекулярної біології та медицини, протокол № 1 від „10” січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач лабораторії молекулярної
фармакології та медицини

д.біол.н., ст. Досл. Ларіонов В.Б.

Додаток Б3



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету

професор

І.М. Владимірова

«16» січня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Юхимчук Алла Володимирівна, професор Волощук Наталя Іванівна, професор Штриголь Сергій Юрійович.
3. **Джерела інформації:**
 1. Yuhimchuk A. V., Voloshchuk N. I., Shtrygol' S. Yu., at al. Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury // World of medicine and biology. – 2023 №4(86), P. 243-247.
 2. Волощук Н.І., Юхимчук А.В. Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2023. – Т.17, №4. – С. 248-254.
 3. Юхимчук А.В., Волощук Н.І. Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегантний гемостаз у самців та самок шурів за гострої холодової травми // Перспективи та інновації науки. – 2023. – №16(34). – С. 1024-1035.
4. **Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри фармакології та фармакоterapiї Національного фармацевтичного університету з «8» січня 2024 р.
5. **Результат впровадження:** отримана інформація сприяє поглибленню знань про особливості судинних реакцій у особин різної статі у відповідь на вплив екстремально низьких температур та фригопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду. Інформація щодо статеві-індукованих механізмів у патогенезі холодової травми та її корекції доповнить наявні уявлення з цих питань і сприятиме кращій підготовці здобувачів вищої освіти при вивченні розділів «Загальна фармакологія», «Засоби, що впливають на систему крові», «Гормональні лікарські засоби».
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакоterapiї Національного фармацевтичного університету, протокол № 9 від «15» січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження

завідувач кафедри фармакології професор

С.Ю. Штриголь

Додаток Б4

«Затверджую»
 Директор ННЦ
 «Інститут біології та медицини»
 Київського національного
 університету імені Тараса Шевченка

 Остапченко Л.І.
 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Юхимчук Алла Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна, професор Штриголь Сергій Юрійович.
3. **Джерела інформації:**
 1. Yuhimchuk A. V., Voloshchuk N. I., Shtrygol' S. Yu., et al. Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury // World of medicine and biology / 2023 №4(86), P. 243-247
 2. Волощук Н.І., Юхимчук А.В. Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2023. – Т.17, №4. – С. 248-254
 3. Юхимчук А.В., Волощук Н.І. Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегантний гемостаз у самців та самок щурів за гострої холодової травми // Перспективи та інновації науки. – 2023. - №16(34). – С. 1024-1035.
4. **Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри технологій медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського Національного університету ім. Тараса Шевченка з „__” _____ 20__ р
5. **Результат впровадження:** отримана інформація сприяє поглибленню знань про особливості судинних реакцій у особин різної статі у відповідь на вплив екстремально низьких температур та фригопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду. Інформація щодо статі-індукованих механізмів в патогенезі холодової травми та її корекції доповнить існуючі уявлення в цьому напрямку та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні розділів «Загальна фармакологія» та «Засоби, що впливають на виконавчі органи».
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
 Обговорено та затверджено на засіданні кафедри технологій медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського Національного університету ім. Тараса Шевченка протокол № 4 від „23” січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри технологій медичної діагностики та лікування
 ННЦ «Інститут біології та медицини»
 КНУ імені Тараса Шевченка,
 д.мед.н., професор



Олександр МАЄВСЬКИЙ

Додаток Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної та адміністративної роботи та якості освіти
Запорізького державного медичного університету,
Світлана Моргунова
« 10 » квітня 2024 р



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)
- Установа, Адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Юхимчук Алла Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна, професор Штригол Сергій Юрійович.
- Джерела інформації:**
 - Yuhimchuk A. V., Voloshchuk N. I., Shtrygol' S. Yu., et al. Vascular mechanisms in the formation of gender differences in the protective effect of glucosamine in experimental cold injury // World of medicine and biology / 2023 №4(86), P. 243-247
 - Волощук Н.І., Юхимчук А.В. Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2023. – Т.17, №4. – С. 248-254
 - Юхимчук А.В., Волощук Н.І. Вплив глюкозаміну на коагуляційний та агрегантний гемостаз у самиць та самок щурів за гострої холодової травми // Перспективи та інновації науки. – 2023. - №16(34). – С. 1024-1035.

Де і коли впроваджено: у науково-педагогічній процес кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету з 9 квітня 2024р.

- Результат впровадження:** отримана інформація сприяє поглибленню знань про особливості судинних реакцій у особин різної статі у відповідь на вплив екстремально низьких температур та фригопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду. Інформація щодо стать-індукованих механізмів в патогенезі холодової травми та її корекції доповнить існуючі уявлення в цьому напрямку та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні розділів «Загальна фармакологія» та «Засоби, що впливають на виконавчі органи».

- Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, протокол № 8 від 9 квітня 2024р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету,
професор



Ігор Беленічев