

УДК 661.778:616.5–001.19

## ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КОЛЛАГЕНА ДЕРМЫ КРЫС ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ХОЛОДОВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

**Н. А. Шутский<sup>1</sup>, Л. Л. Шагров<sup>1</sup>, С. Л. Кашутин<sup>1</sup>, А. С. Аксенов<sup>2</sup>,  
С. И. Малявская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

<sup>2</sup> Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова,  
Архангельск, Россия

Изучена динамика массы коллагена крыс в условиях локального холодового повреждения. Разработан и впервые применен метод количественного определения коллагена дермы. Холодовую травму воспроизводили на беспородных самцах и самках крыс массой 180–200 г путем наложения на депилированную кожу спины металлической гири диаметром 2,5 см, охлажденной в жидком азоте. На 3-и сут после холодового повреждения у крыс регистрировали статистически значимое снижение содержания коллагена. С 14-е сут после холодового повреждения наблюдали увеличение содержания коллагена за счет восстановленной активности фибробластов. К 21-м сут увеличение содержания коллагена продолжалось, но полного восстановления не наблюдалось.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** холодовое повреждение; дерма; коллаген; ферментативный гидролиз; восстановление.

**N. A. Shutskiy, L. L. Shagrov, S. L. Kashutin, A. S. Aksenov, S. I. Ma-  
lyavskaya. CHANGES IN THE COLLAGEN CONTENT IN THE DERMIS OF  
RATS AFTER LOCAL COLD INJURIES**

Changes in collagen mass in rats were studied under the conditions of local cold injuries. A method for quantitative determination of collagen in the dermis was developed and applied for the first time. Cold injury was replicated in mongrel male and female rats weighing 180–200 grams by applying a metal weight 2.5 cm in diameter, cooled in liquid nitrogen, to depilated skin on the back. A statistically significant decrease in collagen content was recorded in rats on day 3 after cold damage. Starting with the 14<sup>th</sup> day after the cold injury, an increase in collagen content was observed due to the restored activity of fibroblasts. By the 21<sup>st</sup> day, collagen content continued increasing, but full recovery was not observed.

**Key words:** cold injury; dermis; collagen; enzymatic hydrolysis; recovery.

### Введение

Холодовая травма является одной из важнейших медико-социальных проблем как в во-

енное, так и в мирное время, при стихийных бедствиях, авариях, катастрофах [Pulla et al., 1994; Плотников, 2000; Галеев и др., 2002; Ingram, Raymond, 2013]. Тяжесть осложнений

и большой процент выхода на инвалидность трудоспособного контингента общества придают данной проблеме не только медико-социальную, но и экономическую направленность, что приобретает особое значение в условиях освоения Арктики [Pulla et al., 1994; Сизоненко, 1997; Будко и др., 2000; Сизоненко и др., 2002; Таранова, 2009; Ingram, Raymond, 2013].

Изучение процессов восстановления тканей после термических воздействий, как ожогов, так и обморожений, является одним из актуальных направлений регенеративной медицины. Особая роль в процессах регенерации соединительной ткани отводится компонентам межклеточного матрикса (МКМ). Коллаген, как один из основных компонентов МКМ, составляет около 90 % от сухого веса МКМ, обеспечивает структурную поддержку, участвует в регуляции различных процессов, протекающих в норме и при возникновении различных патологических состояний: регуляция межклеточных коммуникаций, адгезии, миграции, пролиферации, дифференцировки и др. В связи с чем актуальным представляется вопрос о выборе адекватной методики для оценки содержания данного компонента МКМ в процессе восстановления соединительной ткани при различных повреждениях [Байрейтер и др., 1995; Sorrel, Caplan, 2004; Омельяненко, Слуцкий, 2009; Бозо и др., 2010].

Основным продуцентом белков межклеточного матрикса являются дермальные фибробласты, формирующие трехмерную структурную сеть дермы [Ардашев и др., 2000; Banzo et al., 2002; Finderle, 2002; Гарстукова и др., 2008; Шаповалов, 2008; Карайланов и др., 2008]. Структура коллагенового матрикса оказывает значительное влияние на функции фибробластов [Fisher et al., 2008]. Согласно исследованию Ф. Гриннелл, физические свойства коллагеновых волокон непосредственно влияют на функциональную активность фибробластов дермы. В частности, фрагментация коллагенового матрикса приводит к дезорганизации целостности коллагеновой сети МКМ и к нарушению фокальных контактов между фибробластами и коллагеновым матриксом. Данные процессы лишают фибробласты возможности находиться в растянутом состоянии, являющемся обязательным условием для их метаболической активности (роста и функционирования) [Grinnell, 2003].

Вполне очевидно, что влияние на рост и развитие соединительной ткани и может быть одним из решений, способных повысить эффективность лечения локальных отморожений. С опорой на это предположение возникает

интерес к изучению механизмов, направленных на замещение дефектов собственными тканями.

Известно, что на 7-е сут после локального холодового повреждения в зоне поражения появляются небольшие очаговые скопления фибробластов [Ардашев и др., 2000; Banzo et al., 2002; Finderle, 2002; Гарстукова и др., 2008; Шаповалов, 2008; Карайланов и др., 2008]. Но данные, подтверждающие, что эти фибробласты функционально активны, отсутствуют.

В настоящее время известны несколько способов количественного определения содержания коллагена. Один из них заключается в проведении реакции антиген – антитело с использованием меченых радиоактивными изотопами реактивов [Земсков и др., 1982]. Недостатками указанного способа являются невозможность исследования образцов тканей (способ применим только для растворов) и необходимость применения радиоактивных веществ.

Также существует способ количественного определения коллагена в ткани [Виллануэва и др., 2006]. Положительными в данном способе являются возможность точного определения концентрации коллагена, широкий спектр применения. Недостатками – технологическая сложность процедуры, необходимость применения хроматографа высокого давления, высокая стоимость применяемого оборудования и расходных материалов, реактивов.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение динамики содержания коллагена дермы крыс в восстановительном периоде после локального холодового повреждения, тем самым планировалось косвенно определить синтетическую активность продуцентов коллагена.

## Материалы и методы

Эксперимент проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также с учетом требований «Международной Хельсинкской конвенции о гуманном отношении к животным» (1972).

Холодовую травму воспроизводили на беспородных самцах и самках крыс массой 180–200 г, содержащихся в одинаковых условиях, на стандартном пищевом режиме. После наступления наркотического сна моделировали контактное отморожение с помощью металлической гирьки диаметром 2,5 см, которую предварительно охлаждали в жидком азо-

те, а потом прикладывали к депилированной коже спины крысы на 3 мин по методу [Бойко, 2010]. В результате такого воздействия у экспериментальных животных развивалось локальное отморожение 3-й степени [Тодоров, 1968].

Кусочек пораженной кожи забирали посредством панч-скальпеля № 5 сразу после передозировки средства для наркоза на 3, 7, 14 и 21-е сут. В качестве контрольной группы были использованы беспородные крысы аналогичной массы тела, содержащиеся в тех же условиях, что и опытная группа. Группы формировали из 7 животных.

Определение содержания коллагена в дерме осуществляли следующим методом:

1 этап – высушивание кожи. Предварительно взвешенный и замороженный при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  в 1 мл 0,9% физиологического раствора хлорида натрия кусочек ткани высушивали в лиофильной сушилке при температуре  $-46\text{ }^{\circ}\text{C}$  и давлении 0,040 мБар, измельчали путем нарезания микротомным лезвием на фрагменты толщиной не более 3 мм;

2 этап – подготовка к ферментативному гидролизу. Полученные фрагменты поместили в градуированную пробирку Eppendorf вместимостью 1,5 мл, заливали 1 мл 15% водного раствора гидроксида натрия на 24 часа при температуре  $18\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после чего неоднократно промывали дистиллированной водой при температуре  $18\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в объеме 1 мл. После достижения целевого уровня pH надосадочной жидкости 7,0 супернатант аспирировали дозатором таким образом, чтобы количество осадка в пробирке не превышало 0,3 мл. Полученный материал замораживали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , высушивали в лиофильной сушилке и взвешивали на аналитических весах, определяя массу материала  $m_1$ ;

3 этап – ферментативный гидролиз коллагена. Полученный безводный осадок разводили в 900 мкл фосфатного буферного раствора с pH 7,0 и добавляли 100 мкл раствора коллагеназы (Россия), который заранее приготавливали путем растворения лиофильно высушенного препарата коллагеназы в 10 мл фосфатного буферного раствора с уровнем pH 7,0. Затем пробирку с содержимым устанавливали в шейкер-инкубатор ES-20 (BioSan, Латвия) при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  и интенсивно перемешивали в течение 2 часов. После этого пробирку центрифугировали при 13400 об/мин в течение 5 минут, аспирировали дозатором надосадочную жидкость, добавляли дистиллированную воду до объема 1 мл, гомогенизировали полученный материал. Процедуру, включающую гомогени-

зацию путем ресуспендирования дозатором, центрифугирование, аспирацию надосадочной жидкости и добавление воды до объема 1 мл, повторяли 5 раз. После этого материал замораживали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , лиофильно высушивали и взвешивали, определяя массу материала  $m_2$ . По разнице масс  $m_1$  и  $m_2$  находили массу коллагена, содержащегося в исследуемой ткани. Процентное содержание коллагена в ткани определяют отношением установленной массы коллагена к массе образца ткани.

Таким образом, содержание коллагена определяли по формуле:

$$m_{\text{коллагена}} = m_1 - m_2, \text{ г},$$

где  $m_1$  – масса кожи до ферментативного гидролиза, г;  $m_2$  – масса кожи после ферментативного гидролиза, г.

Процентное содержание коллагена в ткани определяли по формуле:

$$\begin{aligned} \% \text{ содержания коллагена} &= \\ &= \frac{\text{масса коллагена}}{\text{масса образца ткани}} * 100 \%. \end{aligned}$$

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью SPSS 13.0 for Windows. Описание выборок проводили с помощью подсчета медианы (Md) и межквартильного интервала Q25Q75. Вероятность различий оценивали по непараметрическому критерию Колмогорова – Смирнова.

## Результаты и обсуждение

Как следует из представленных в таблице данных, на 3-и сут после локального холодового повреждения у крыс регистрировали статистически значимое снижение массы коллагена дермы и его процентного содержания до 21,71 %, что связано с наличием воспалительных процессов, разрушением кровеносных сосудов и замедлением процесса неоколлагенеза. Но уже на 7-е сут после холодового повреждения масса коллагена начала восстанавливаться, достигнув 5,25 мг. Наряду с увеличением массы коллагена существенно увеличилось его процентное содержание в дерме. В период с 7-х по 14-е сут увеличение массы коллагена и его процентного содержания в собственно коже регистрировали только в виде тенденции: до 6,0 мг и до 35,91 % соответственно. Статистически значимое увеличение количества коллагена вновь возобновилось с 14-х по 21-е сут, достигнув уровня 8,95 мг, что также отразилось на увеличении его процентного содержания. Масса коллагена дермы, как

Масса коллагена (мг) и его % содержание в дерме крыс после локального холодового повреждения Md (Q25; Q75)

The mass of collagen (mg) and its percentage content in the dermis of rats after local cold injuries Md (Q25; Q75)

Показатели Indicators	Контроль Control n=7	Сроки исследования Terms of research				Вероятность Probability
		3 n=7	7 n=7	14 n=7	21 n=7	Уровень значимости различий (p) Significance level of differences (p)
1	2	3	4	5	6	7
Масса коллагена (мг) Mass of collagen (mg)	10,7 (9,0;12,3)	3,1 (2,8; 3,9)	5,25 (4,97; 5,92)	6,0 (5,7; 7,0)	8,95 (8,62; 9,57)	2-3 Z = 1,87; p = 0,002 2-4 Z = 1,79; p = 0,003 2-5 Z = 1,6; p = 0,01 <b>2-6 Z = 1,13; p = 0,15</b> 3-4 Z = 1,79; p = 0,003 3-5 Z = 1,87; p = 0,002 3-6 Z = 1,93; p = 0,001 <b>4-5 Z = 0,94; p = 0,33</b> 4-6 Z = 1,85; p = 0,002 5-6 Z = 1,65; p = 0,008
Содержание коллагена в дерме (%) Collagen content in the dermis (%)	71,43 (59,21; 72,78)	21,71 (16,37; 22,51)	31,15 (30,02; 33,55)	35,91 (32,39; 49,29)	52,27 (46,42; 55,17)	2-3 Z = 1,87; p = 0,02 2-4 Z = 1,79; p = 0,003 2-5 Z = 1,87; p = 0,02 <b>2-6 Z = 1,69; p = 0,007</b> 3-4 Z = 1,79; p = 0,003 3-5 Z = 1,87; p = 0,002 3-6 Z = 1,93; p = 0,001 <b>4-5 Z = 1,24; p = 0,09</b> 4-6 Z = 1,85; p = 0,002 5-6 Z = 1,38; p = 0,04

и его содержание в дерме, на 21-е сутки практически была такой же, как и в группе контроля.

Таким образом, после локального холодового повреждения увеличение массы коллагена дермы и его процентного содержания происходит с 3-х по 7-е и с 14-х по 21-е сут.

Известно, что на 3-и сут при 3-й степени отморожения эпидермис полностью слущен, сосочковый слой дермы разрушен, а в сетчатой дерме – выраженный фибриноидный некроз [Гарстукова и др., 2008; Карайланов и др., 2008; Шаповалов, 2008]. Вполне очевидно, что содержание массы коллагена к 3-м сут минимальное: он разрушен и синтез новых волокон не наблюдается.

На основании увеличения массы коллагена и его процентного содержания в дерме с 3-х по 7-е сут можно полагать о начале репаративных процессов именно в этот период. Таким образом, скопления фибробластов в очаге локального холодового повреждения на 7-е сут являются функционально активными в направлении синтеза волокнистых структур соединительной ткани.

С 7-х по 14-е сут регистрируется увеличение массы коллагена и его процент содержания, но оно не является статистически значимым. Следующий пик наблюдается с 14-х по 21-е сут. Учитывая, что статистически значимых

различий в массе коллагена и его процентного содержания между группой контроля и опытной группой на 21-е сут не отмечено, можно считать, что изучаемые параметры одинаковы, и это позволяет полагать о частичном восстановлении массы коллагена дермы к 21-м суткам.

### Заключение

В настоящей работе впервые применяется способ определения количества коллагена в ткани. Преимуществами предложенного метода являются: уменьшение материальных и временных затрат и такое важное преимущество, как избегание использования радиоактивных веществ.

Проведенное исследование количественного анализа коллагена, формируемого в ходе восстановления после локального холодового повреждения, позволяет судить о проявлении активности фибробластов к синтезу основного белка межклеточного матрикса. Благодаря предложенному способу определения количества коллагена можно отслеживать формирование данного белка в дерме в динамике заживления раневой поверхности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание коллагена дермы после холо-

догового повреждения резко снижается с 10,6 до 3,9 мг и в процессе заживления раневой поверхности увеличивается, не достигая исходных данных к 21-м суткам.

## Литература

Ардашев И. П., Плотников Г. А., Григорук А. А. и др. Остеомиелит позвоночника // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. 2000. № 3. С. 70–75.

Байрейтер К., Франц П., Родеман Х. Фибробласты при нормальной и патологической терминальной дифференцировке, старении, апоптозе и трансформации // Онтогенез. 1995. № 236(1). С. 22–37.

Бозо И. Я., Деев Р. В., Пинаев Г. П. Фибробласт – специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? // Цитология. 2010. № 52(2). С. 99–109.

Бойко В. В. Изучение морфологических особенностей в тканях экспериментальных животных при моделировании холодовой травмы // Вестник морфологии. 2010. № 16(3). С. 526–528.

Будко А. А., Кичемасов С. Х., Скворцов Ю. Р., Барановский А. М., Ретунских В. П., Хороший К. А. Особенности оказания медицинской помощи при отморожениях в советско-финской войне // Военно-медицинский журнал. 2000. № 4(1). С. 73–78.

Галеев А. Р., Игишева Л. Н., Казин Э. М. Вариабельность сердечного ритма у здоровых детей в возрасте 6–16 лет // Физиология человека. 2002. № 28(4). С. 61–65.

Гарстукова Л. Г., Кузнецов С. Л., Деревянко В. Г. Наглядная гистология (общая и частная) М.: МИА, 2008. 204 с.

Карайланов М. Г. Термоизоляция пораженных тканей как профилактика некрозов при холодовых поражениях в вооруженных конфликтах // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2008. № 1. С. 70–73.

Омельяненко Н. П., Слуцкий Л. И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). М.: Известия, 2009. 378 с.

Плотников Г. А. Диагностика поражения тканей в раннем периоде отморожений // Новые направления в клинической медицине: материалы Всерос. конф. Ленинск-Кузнецкий, 2000. С. 162–163.

Патент РФ № 2452956. 2012. Виллануэва П. А., Макналти Э. К., Беникер Г. Д., Киесветтер К. Способ

количественного определения коллагена в ткани // Заявка № 2009109113/15. 21.09.2006.

Патент СССР № 935792. 15.06.1982. Земсков В. М., Смирнов М. Д., Алексеев А. Б., Масенко В. П. Способ количественного определения коллагена // Описание изобретения к авторскому свидетельству № 935792, 1980. Бюл. № 22. Заявка № 2966207/30-15.

Сизоненко В. А. Классификация холодовой травмы: Тезисы докл. VI съезда травматологов и ортопедов России. Н. Новгород, 1997. 138 с.

Сизоненко В. А., Кузник Б. И., Витковский Ю. А., Подойницына В. И. Биорегулирующая терапия у больных с острой холодовой травмой: Третья научная конференция по проблеме «Холодовая травма»: Сб. тезисов. СПб., 2002. С. 68–70.

Таранова Е. В. Пути повышения эффективности лечения отморожений (экспериментально-клиническое исследование): дис. ... канд. мед. наук. Курск, 2009. 79 с.

Тодоров Й. Т. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: 6-е рус. изд-во, 1968. 784 с.

Шапвалов К. Г. Изменения компонентов сосудистого тонуса и показателей микроциркуляции при отморожениях нижних конечностей // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. 2008. № 3. С. 67–68.

Banzo J., Martínez V. G., Abós M. D. Frostbite of the upper and lower limbs in an expert mountain climber: the value of bone scan in the prediction of amputation level // Rev. Esp. Med. Nucl. 2002. No. 21(5). P. 366–369.

Ingram B. J., Raymond T. J. Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries // Curr. Sports. Med. Rep. 2013. No 12(2). P. 125–130. doi: 10.1249/JSR.0b013e3182877454

Finderle Z. Delayed treatment of frostbite injury with hyperbaric oxygen therapy: a case report // Aviat Space Environ Med. 2002. Vol. 73, no. 4. P. 392–394.

Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices // Trends Cell Biol. 2003. No. 13(5). P. 264–269.

Pulla R. J., Pickard L. J., Carnett T. S. Frostbite: an overview with case presentations // J. Foot Ankle Surg. 1994. No. 33(1). P. 53–63.

Sorrel J. M., Caplan A. I. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep // J. Cell Sci. 2004. No. 117. P. 667–675.

Поступила в редакцию 16.01.2019

## References

Ardashev I. P., Plotnikov G. A., Grigoruk A. A. et al. Osteomyelitis of the vertebrae [Vertebral osteomyelitis]. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N. N. Priorova [N. N. Priorov J. of Traumatology and Orthopedics]. 2000. No. 3. P. 70–75.

Baireiter K., Frants P., Rodeman Kh. Fibroblasts in normal and pathological terminal differentiation, aging, apoptosis and transformation. Ontogenez [Ontogenesis]. 1995. No. 236(1). P. 22–37.

Bozo I. Ya., Deev R. V., Pinaev G. P. Fibroblast – spetsializirovannaya kletka ili funktsional'noe sostoyanie kletok mezenkhimnogo proiskhozhdeniya? [Is a fibroblast a specialized cell or a functional state of cells of mesenchymal origin?]. Tsitologiya [Cytology]. 2010. No. 52(2). P. 99–109.

Boiko V. V. Izuchenie morfologicheskikh osobnostei v tkanyakh eksperimental'nykh zhivotnykh pri modelirovanii kholodovoi travmy [The study of morphological features in the tissues of experimental animals in the simulation of cold injury]. Vestnik mor-

*fologii* [Reports of Morphology]. 2010. No. 16(3). P. 526–528.

*Budko A. A., Kichemasov S. Kh., Skvortsov Yu. R., Baranovskii A. M., Retunskikh V. P., Khoroshii K. A.* Osobennosti okazaniya meditsinskoi pomoshchi pri otmorozheniyakh v sovetsko-finskoj voine [Features of medical care for frostbite in the Soviet-Finnish war]. *Voenno-meditsinskii zhurn.* [Military Medicine J.]. 2000. No. 4(1). P. 73–78.

*Galeev A. R., Igisheva L. N., Kazin E. M.* Variabel'nost' serdechnogo ritma u zdorovykh detei v vozraste 6–16 let [Heart rate variability in healthy children aged 6–16 years]. *Fiziol. cheloveka* [Human Physiol.]. 2002. No. 28(4). P. 61–65.

*Garstukova L. G., Kuznetsov S. L., Derevyanko V. G.* Naglyadnaya gistologiya (obshchaya i chastnaya) [Visual histology (general and special)]. Moscow: MIA [Medical Information Agency], 2008. 204 p.

*Karaylanov M. G.* Termoizolyatsiya porazhennykh tkanei kak profilaktika nekrozov pri kholodovykh porazheniyakh v vooruzhennykh konfliktakh [Thermal insulation of affected tissues as prevention of necrosis during cold lesions in armed conflicts]. *Vestn. Ros. voen.-med. akad.* [Bull. Naval Acad.]. 2008. No. 1. P. 70–73.

*Omel'yanenko N. P., Slutskii L. I.* Soedinitel'naya tkan' (gistofiziologiya i biokhimiya) [Connective tissue (histophysiology and biochemistry)]. Moscow: Izvestia, 2009. 378 p.

*Plotnikov G. A.* Diagnostika porazheniya tkanei v rannem periode otmorozhenii [Diagnosis of tissue damage in the early period of frostbite]. *Novye napravleniya v klinicheskoi meditsine: mat. Vseros. konf. Leninsk-Kuznetskii* [New directions in clinical medicine: Proceed. All-Russ. conf., Leninsk-Kuznetsky]. 2000. P. 162–163.

*Patent RF № 2452956.* 2012 [Patent of the Russian Federation No. 2452956. 2012]. *Villanueva P. A., Maknalti E. K., Beniker G. D., Kiesvetter K.* Sposob kolichestvennogo opredeleniya kollagena v tkani [A method for collagen quantification in tissues]. Zayavka № 2009109113/15. 21.09.2006 [Application No. 2009109113/15. 21.09.2006].

*Patent SSSR № 935792* [Patent of the USSR No. 935792]. 15.06.1982. *Zemskov V. M., Smirnov M. D., Alekseev A. B., Masenko V. P.* Sposob kolichestvennogo opredeleniya kollagena [A method for collagen quantification]. Opisaniye izobreteniya k avtorskomu svidetel'stvu № 935792, 1980. Byul. № 22. Zayavka № 2966207/30–15 [Description of the invention for the inventor's certificate No. 935792, 1980. Bull. 22. Application No. 2966207/30–15].

*Shapovalov K. G.* Izmeneniya komponentov sosudistogo tonusa i pokazatelei mikrotsirkulyatsii pri otmorozheniyakh nizhnikh konechnosti [Changes in the components of vascular tone and microcirculation indices in frostbite of the lower extremities]. *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova* [Grekov's Bull. of Surgery]. 2008. No. 3. P. 67–68.

*Sizonenko V. A.* Klassifikatsiya kholodovoi travmy [Classification of cold injury]. *Tez. dokl. VI s'ezda travmatologov i ortopedov Rossii* [Abs. VI Congress of traumatologists and orthopedists of Russia]. N. Novgorod, 1997. 138 p.

*Sizonenko V. A., Kuznik B. I., Vitkovskii Yu. A., Podoinitsyna V. I.* Bioreguliruyushchaya terapiya u bol'nykh s ostroi kholodovoi travmoi [Bioregulating therapy in patients with acute cold trauma]: Tret'ya nauch. konf. po probleme "Kholodovaya travma": Sb. tezisov [Problem of "cold injury": Proceed. of the 3<sup>rd</sup> sci. conf.]. St. Petersburg, 2002. P. 68–70.

*Taranova E. V.* Puti povysheniya effektivnosti lecheniya otmorozhenii (eksperimental'no-klinicheskoe issledovanie) [Ways to improve the effectiveness of frostbite treatment (experimental clinical study)]. Kursk, 2009. 79 p.

*Todorov Y. T.* Klinicheskie laboratornye issledovaniya v pediatrii [Clinical laboratory studies in pediatrics]. Sofia: 6<sup>th</sup> Rus. ed., 1968. 784 p.

*Banzo J., Martínez V. G., Abós M. D.* Frostbite of the upper and lower limbs in an expert mountain climber: the value of bone scan in the prediction of amputation level. *Rev. Esp. Med. Nucl.* 2002. No. 21(5). P. 366–369.

*Ingram B. J., Raymond T. J.* Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries. *Curr. Sports. Med. Rep.* 2013. No. 12(2). P. 125–130. doi: 10.1249/JSR.0b013e3182877454

*Finderle Z.* Delayed treatment of frostbite injury with hyperbaric oxygen therapy: a case report. *Aviat Space Environ Med.* 2002. Vol. 73, no. 4. P. 392–394.

*Grinnell F.* Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol.* 2003. No. 13(5). P. 264–269.

*Pulla R. J., Pickard L. J., Carnett T. S.* Frostbite: an overview with case presentations. *J. Foot. Ankle. Surg.* 1994. No. 33(1). P. 53–63.

*Sorrel J. M., Caplan A. I.* Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *J. Cell Sci.* 2004. No. 117. P. 667–675.

Received January 16, 2019

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### Шутский Никита Алексеевич

лаборант-исследователь  
Северный государственный медицинский университет  
пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000  
эл. почта: nikitashutskij@rambler.ru  
тел.: +79009204623

## CONTRIBUTORS:

### Shutskiy, Nikita

Northern State Medical University  
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia  
e-mail: nikitashutskij@rambler.ru  
tel.: +79009204623

**Шагров Леонид Леонидович**

младший научный сотрудник  
Северный государственный медицинский университет  
пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000  
эл. почта: leonidshagrov@mail.ru  
тел.: +79506608685

**Кашутин Сергей Леонидович**

заведующий каф. кожных и венерических болезней, д. м. н.  
Северный государственный медицинский университет  
пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000  
эл. почта: sergeycash@yandex.ru  
тел.: +79062812390

**Аксенов Андрей Сергеевич**

заведующий каф. биологии, экологии и биотехнологии,  
к. т. н.  
Северный (Арктический) федеральный университет  
им. М. В. Ломоносова  
наб. Северной Двины, 17, Архангельск, Россия, 163002  
эл. почта: a.s.aksenov@narfu.ru  
тел.: +79212915446

**Малявская Светлана Ивановна**

проректор по научно-инновационной работе,  
д. м. н., проф.  
Северный государственный медицинский университет  
пр. Троицкий, 51, Архангельск, Россия, 163000  
эл. почта: malyavskaya@yandex.ru  
тел.: +79214809546

**Shagrov, Leonid**

Northern State Medical University  
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia  
e-mail: leonidshagrov@mail.ru  
tel.: +79506608685

**Kashutin, Sergey**

Northern State Medical University  
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia  
e-mail: sergeycash@yandex.ru  
tel.: +79062812390

**Aksenov, Andrey**

Northern (Arctic) Federal University named after  
M. V. Lomonosov  
17 Severnaya Dvina Emb., 163002 Arkhangelsk, Russia  
e-mail: a.s.aksenov@narfu.ru  
tel.: +79212915446

**Malyavskaya, Svetlana**

Northern State Medical University  
51 Troitskiy Ave., 163000 Arkhangelsk, Russia  
e-mail: malyavskaya@yandex.ru  
tel.: +79214809546