

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-001.19-002.4:[615.468:677.473-022.532]-092.4

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-2-248-256>

Поступила в редакцию 16. 03.2022

Received 16. 03.2022

В. Д. Меламед, А. Л. Валентюкевич, Н. И. Прокопчик

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ С НАНОВОЛОКНАМИ ХИТОЗАНА В СОЧЕТАНИИ С НЕКРЭКТОМИЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОТМОРОЖЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Аннотация. Проблема лечения пациентов с глубокими отморожениями по-прежнему актуальна ввиду ее большой социальной и экономической значимости, что обуславливает необходимость дальнейших исследований. В структуре общего травматизма удельный вес холодовой травмы может достигать 10 %. Многообразие патофизиологических механизмов криотравмы объясняет сложность лечения, что приводит к частым осложнениям и значительной инвалидизации пациентов, среди которых преобладают лица трудоспособного возраста.

Однако до сих пор не разработана общепризнанная практика ведения пациентов с глубокими отморожениями, к примеру, не аргументирована эффективность различных препаратов для местного лечения, не определены сроки и объем хирургического пособия.

Целью исследования являлось изучение эффективности раневых покрытий с нановолокнами хитозана в сочетании с некрэктомией на 5-е сутки при лечении глубоких контактных отморожений.

На 5-е сутки после моделирования стандартизированных глубоких экспериментальных отморожений у 45 лабораторных крыс выполнялось удаление нежизнеспособных тканей в зоне криовоздействия. Для лечения раневых дефектов использовали мазь «Меколь», стерильные марлевые салфетки и раневые покрытия с нановолокнами хитозана «Хитомед-ранозаживляющее». Производилась гистологическая, морфометрическая и статистическая оценка репаративных процессов в зоне отморожения.

Установлена эффективность применения раневых покрытий с нановолокнами хитозана в сочетании с некрэктомией зоны криовоздействия на 5-е сутки при лечении глубоких отморожений.

Ключевые слова: эксперимент, крысы, отморожения, раневые покрытия, нановолокна, хитозан, гистология, морфометрия, ранняя некрэктомия

Для цитирования: Меламед, В. Д. Эффективность раневых покрытий с нановолокнами хитозана в сочетании с некрэктомией при лечении отморожений в эксперименте / В. Д. Меламед, А. Л. Валентюкевич, Н. И. Прокопчик // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 2. – С. 248–256. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-2-248-256>

Vladimir D. Melamed, Artem L. Valentyukevich, Nikolay I. Prokopchik

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

EFFECTIVENESS OF WOUND COATINGS WITH CHITOSAN NANOFIBERS IN COMBINATION WITH NECRECTOMY IN FROSTBITE TREATMENT IN EXPERIMENT

Abstract. The problem of treatment of the patients with deep frostbite is still relevant due to its great social and economic significance, which necessitates further research. In general injuries structure, the proportion of cold injury can reach 10 %. The variety of the pathophysiological cryotrauma mechanisms explains the treatment complexity, which leads to frequent complications and significant disability of patients, among them the persons of working age are predominate.

However, the generally accepted practice of managing patients with deep frostbite has not yet been developed, for example, the effectiveness of various drugs for local treatment has not been substantiated, the timing and scope of surgical benefits have not been determined.

The aim of the study was to examine the effectiveness of wound coatings with chitosan nanofibers in combination with necrectomy on the 5th day during deep contact frostbite treatment.

On the 5th day after modeling the standard deep experimental frostbites in 45 laboratory rats, the non-viable tissues in the cryopreservation zone were removed. For treatment of wound defects, the Mekol ointment, sterile gauze napkins, and wound coatings with chitosan nanofibers “Hitomed-wound healing” were used. Reparative processes in the frostbite area were assessed histologically, morphometrically, and statistically.

The effectiveness of wound coatings with chitosan nanofibers in combination with necrectomy of the cryoinjured zone on the 5th day in the deep frostbite treatment was established.

Keywords: experiment, rats, frostbite, wound coverings, cold injury, nanofibers, chitosan, histology, morphometry, early necrectomy

For citation: Melamed V. D., Valentyukevich A. L., Prokopchik N. I. Effectiveness of wound coatings with chitosan nanofibers in combination with necrectomy in frostbite treatment in experiment. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 2, pp. 248–256 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-2-248-256>

Введение. Холодовая травма составляет 1–2 % в зонах с умеренным климатом, достигая в северных регионах 6–10 % в структуре травматизма, при этом тяжесть осложнений и высокий процент инвалидизации обуславливают существенную социально-экономическую значимость этой проблемы [1, 2].

Однако до сих пор не разработана общепризнанная практика ведения пациентов с глубокими отморожениями. Результаты местного лечения холодových ран демонстрируют, что применяемые лекарственные средства не всегда соответствуют предъявляемым требованиям [3], что обуславливает поиск новых препаратов, способствующих более эффективному заживлению и регенерации тканей [4]. К таковым относятся раневые покрытия (РП), представленные неткаными материалами с нанесенными нановолокнами природного биополимера хитозана [5].

Доказано, что ранняя некрэктомия (РН) предупреждает инфекционные осложнения, нивелирует нарушения гомеостаза и способствует сокращению сроков восстановления кожного покрова [6–8], однако не определены сроки и объем иссекаемых нежизнеспособных тканей при холодной травме [9, 10].

Цель исследования – изучить эффективность раневых покрытий с нановолокнами хитозана в сочетании с некрэктомией на 5-е сутки при лечении глубоких отморожений в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на 45 белых беспородных лабораторных крысах массой тела 190 ± 24 г в возрасте 5–7 мес. в условиях операционной вивария УО «Гродненский государственный медицинский университет». Работа с животными проведена с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований» УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 30.01.2018), а также в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986). Все манипуляции проводили под эфирным наркозом по закрытому контуру.

Подопытные животные были разделены на три группы, по 15 особей в каждой. Под эфирным наркозом моделировали глубокое отморожение в межлопаточной области при помощи разработанного нами устройства [11]. Перифокально зоны контактного криовоздействия фиксировалась предохранительная пластиковая камера, которая исключала контракцию тканей, сверху которой укладывалась и фиксировалась крышечка для минимизации внешнего воздействия на рану.

Первой группе крыс (контрольная группа 1) на область отморожения укладывали стерильную марлевую салфетку. Второй группе животных (контрольная группа 2) наносили мазь «Меколь» (производство «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь). В третьей группе (опытная группа 3) на зону криовоздействия укладывали разработанные нами РП «Хитомед-ранозаживляющее» (регистрационное удостоверение № ИМ-7.104278, ТУ ВУ 600125053/075-2016, регистрационный номер Мн-7.118864-1510), основу которых составляли хитозановые нановолокна, нанесенные на подкладочный материал [12].

Лабораторным животным всех групп выполняли РН на 5-е сутки после моделирования холодной травмы. К этому времени в области криовоздействия был сформирован плотный струп, который отслаивался по периферии. Для проведения некрэктомии достаточно было умеренного потягивания с помощью пинцета за край струпа, после чего он свободно отделялся. Удаление струпа не сопровождалось травматизацией подлежащих и окружающих структур.

Всем группам крыс в последующем производили ежедневные перевязки до полной эпителизации ран. Для визуального документирования этапов заживления в режиме макросъемки делали фотографии, используя аппарат модели Canon EOS 700D, закрепленный на штативе в 30 см от зоны отморожения.

Площадь раны определяли посредством обработки фотоматериалов в лицензионной компьютерной программе Image Warp Pro. За истинный размер раны принимали зону криовоздействия, ограниченную демаркационной линией. С помощью программы вычисляли количество пикселей в описанной области, соотносили их с количеством пикселей в 1 см² миллиметровой бумаги, расположенной в непосредственной близости от зоны контактного воздействия, и на снимке. После этого результаты автоматически конвертировались в мм². Основными критериями эффективности лечения считали скорость уменьшения площади раневой поверхности и полное заживление дефекта.

Для статистического анализа использовали программу STATISTICA 10 [13] и среду R 4.0 [14] с пакетами расширений NSM3 [15] и PMCMRplus [16]. В качестве описательных статистик для отдельного показателя использовали минимум, максимум; среднее значение и его ошибку, выраженные в виде $M \pm m$; медиану и квартили, выраженные в виде $Me (Q1; Q3)$. Для выявления различий между выборками по уровню показателя применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса [17]. Пороговым значением уровня статистической значимости было принято значение 0,05.

Для гистологических исследований скальпелем иссекали участки ран зоны криовоздействия и прилежащих тканей с последующей подготовкой гистологических препаратов. Оценивали клеточный состав раны и покрывающего ее новообразованного эпителия, состояние подлежащей соединительной и мышечной тканей, выраженность перифокальных воспалительных изменений.

Результаты и их обсуждение. Лабораторным животным всех групп были смоделированы стандартизированные глубокие контактные отморожения, соответствующие третьей степени холодового повреждения [18]. Площадь нанесенной криотравмы составляла $315 \pm 0,27$ мм² (100 %), или $7,58 \pm 0,02$ % от общей площади поверхности тела крысы, и рассчитывалась по формуле Мее–Рубнера в модификации Lee [19].

РН выполняли на 5-е сутки после моделирования холодовой травмы, поскольку ранее проведенные исследования показали, что хирургическое вмешательство на 3-и сутки являлось преждевременным из-за недостаточного отграничения патологического процесса, что приводило к значительной травматизации окружающих и подлежащих тканей [20].

Макроскопически в области отморожения к 5-м суткам определялся плотный струп бурого цвета, заполняющий всю поверхность контактного воздействия. Кожа вокруг струпа была незначительно гиперемирована. По периферии струпа по всей окружности имело место его отслоение на расстоянии 2–3 мм от края раны. Отделялся струп достаточно легко, процедура не сопровождалась травматизацией подлежащих и окружающих структур. После удаления нежизнеспособных тканей кровотечения из раны не наблюдалось. На дне дефекта определялись светлый

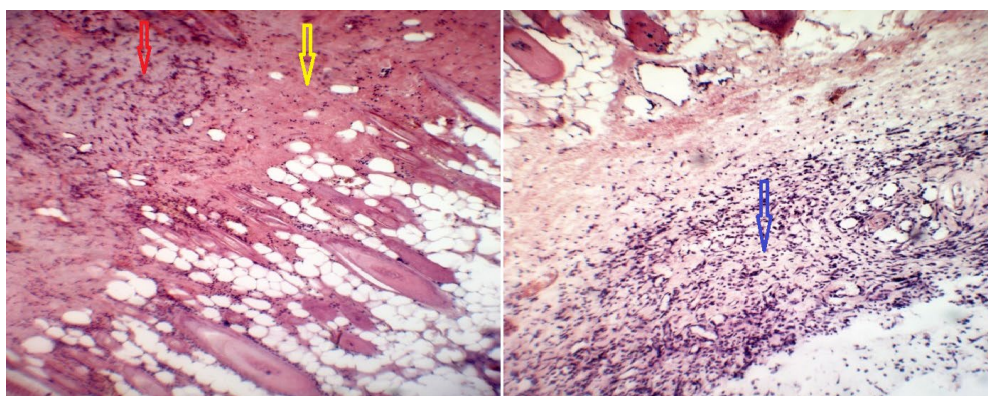


Рис. 1. Гистологические срезы зоны отморожения на 5-е сутки после моделирования: некроз дермы (желтая стрелка), нейтрофильная инфильтрация в дне раны (синяя стрелка), формирование грануляционной ткани (красная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 1. Histological sections of the frostbite area on the 5th day after cryoinjury: dermis necrosis (yellow arrow); neutrophil infiltration at the wound bottom (blue arrow); granulation tissue formation (red arrow). Col.: hematoxylin and eosin. $\times 100$

экссудат и незначительно отечная мышечная ткань. По периферии раны визуализировались грануляции толщиной до 1 мм, наползающие с краев кожного дефекта.

Гистологическая картина в анализируемых группах на 5-е сутки была идентична – в области криовоздействия эпидермис отсутствовал, дерма и придатки кожи подверглись коагуляционному некрозу. В области дефекта определялся тканевой детрит, распространяющийся до уровня подкожно-жировой клетчатки и мышечной ткани, неравномерно инфильтрированный нейтрофилами и пронизанный новообразованными капиллярами. В дне раны и по периферии дефекта в подкожной клетчатке местами определялись скопления формирующейся неспецифической грануляционной ткани, богатой сосудами, макрофагами и фибробластами. Отсутствие морфологических отличий в группах обусловлено очевидной неэффективностью местного воздействия на сформированный струп (рис. 1).

Гистологически у животных группы 1 («марля») к 11-м суткам в ране определялась краевая эпителизация, но эпидермис не являлся полнослойным. Раневая поверхность была заполнена тканевым детритом, который распространялся до мышечной ткани и был представлен как очагами коагуляционного некроза со слабо выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, так и очагами с резко выраженной нейтрофильно-клеточной инфильтрацией и колликвацией. Сформировалась демаркационная линия, отграничивающая детрит от окружающих тканей и представляющая собой

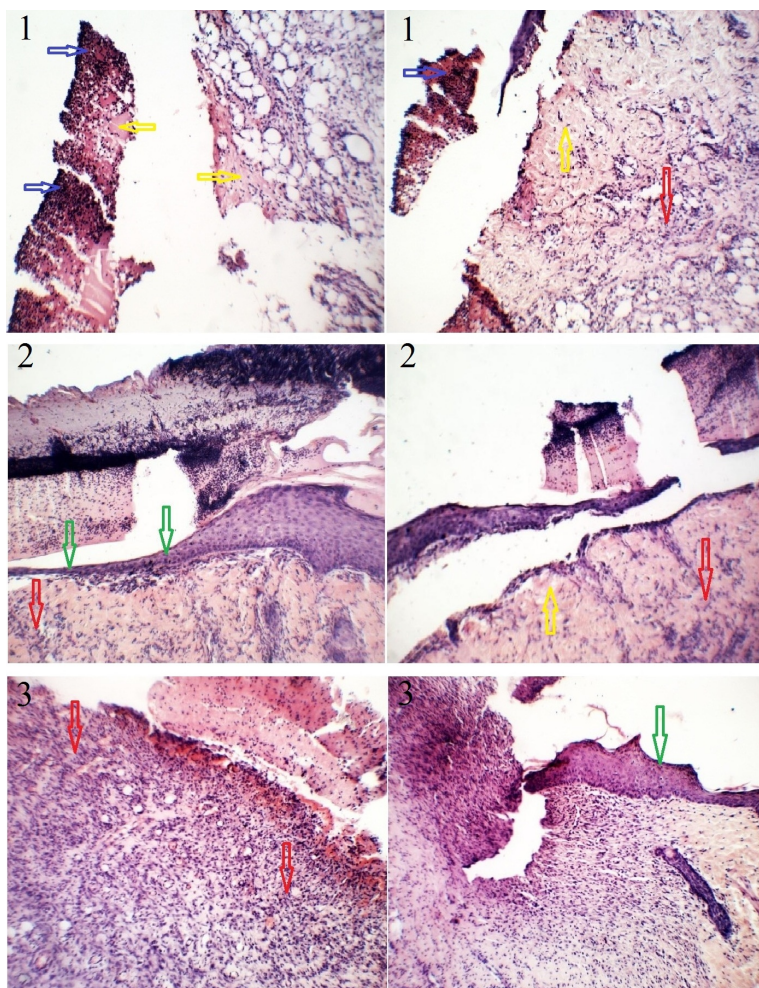


Рис. 2. Гистологические срезы зоны криовоздействия в группах 1, 2, 3 (на снимке указаны цифрами) на 11-е сутки: тканевой детрит (желтая стрелка), грануляционная ткань (красная стрелка), лейкоцитарная инфильтрация (синяя стрелка); регенерация эпидермиса (зеленая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. ×100
 Fig. 2. Histological picture of the frostbite area in groups 1, 2, 3 (numbered on the picture) on the 11th day of the experiment: tissue detritus (yellow arrow), granulation tissue (red arrow), leukocyte infiltration (blue arrow). Col.: hematoxylin and eosin. ×100

широкий пласт молодой грануляционной ткани, насыщенной тонкостенными сосудами венозного типа и тяжами фибробластов. В глубоких слоях дермы и подкожной клетчатке также определялась созревающая грануляционная ткань с наличием вновь образованных коллагеновых волокон (рис. 2).

У животных группы 2 («Меколь») в аналогичном периоде в дне раны определялся тканевой детрит с большим количеством нейтрофилов, который распространялся на кожу, подкожную клетчатку и мышечный слой. В глубоких слоях дермы сохранялся коагуляционный некроз в виде узкой полоски, который инфильтрирован незрелой грануляционной тканью. В подкожной клетчатке имело место разрастание молодой соединительной ткани, ее волокна располагались хаотично, были пронизаны сосудами и тяжами фибробластов. По периферии раны наблюдались признаки регенерации эпидермиса, представленного в виде тонкого слоя эпителиальных клеток (приблизительно в 3 раза тоньше по сравнению с эпидермисом интактных тканей).

У животных группы 3 (РП) к 11-м суткам рана очистилась, тканевой детрит отсутствовал. Дно раны было представлено созревающей грануляционной тканью, богатой кровеносными сосудами, фибробластами и тонкими коллагеновыми волокнами. В грануляционной ткани встречались единичные лимфоциты и нейтрофилы. В краях раны наблюдались признаки эпителизации

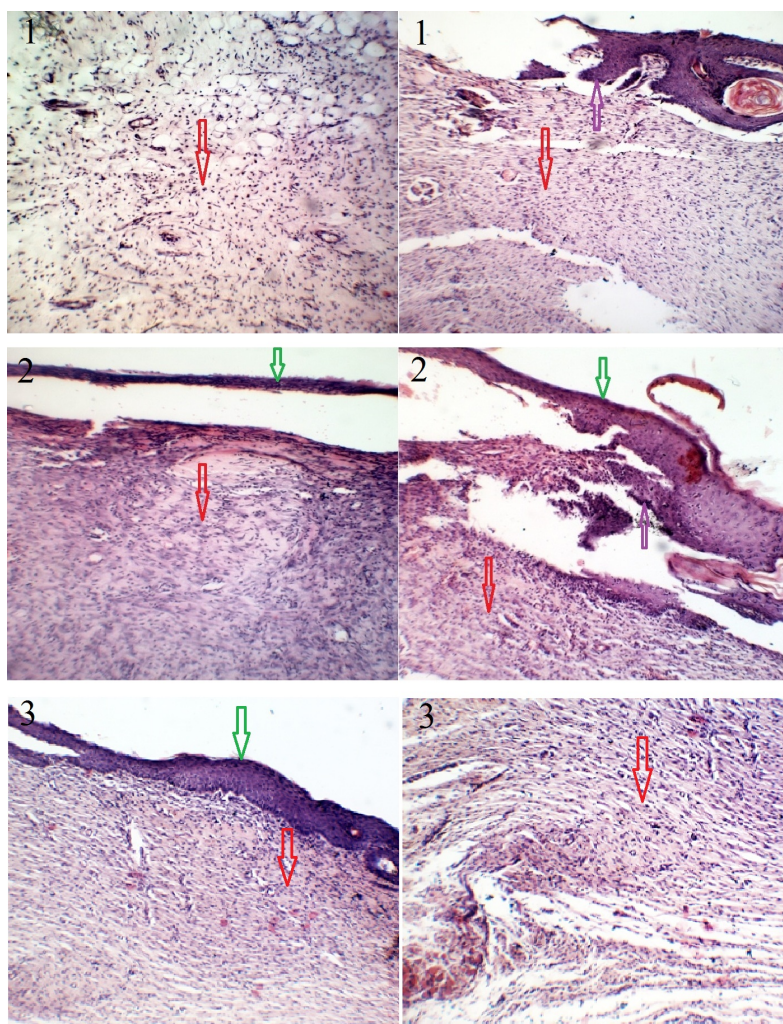


Рис. 3. Зона контактного отморожения в группах 1, 2, 3 (на снимке указаны цифры) на 21-е сутки: грануляционная ткань (красная стрелка), формирующийся эпидермис в краях дефекта (зеленая стрелка), очаговый акантоз (фиолетовая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Fig. 3. Contact frostbite zone in groups 1, 2, 3 (numbered on the picture) on the 21th day: granulation tissue (red arrow), forming epidermis at the edges of the defect (green arrow), focal acanthosis (purple arrow); regeneration of epidermis (green arrow). Col.: hematoxylin and eosin. $\times 100$

в виде появления многослойного плоского эпителия. Эпидермис, нарастающий на поверхность раны по грануляционной ткани, являлся полнослойным: присутствовали базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои. По мере удаления от края раны эпидермис истончался за счет уменьшения количества слоев клеток.

На 21-е сутки в группе 1 («марля») рана эпидермизировалась лишь частично, преимущественно по периферии. Эпидермис неравномерной толщины, с очагами акантоза. Непосредственно на дне раны отмечались полнокровие сосудов и отек, тканевой детрит отсутствовал. В дерме и подкожной клетчатке имело место разрастание созревающей грануляционной ткани, богатой не только коллагеновыми волокнами, но и клетками, представленными лимфоцитами, моноцитами, фибробластами, фиброцитами (рис. 3).

В группе 2 («Меколь») в аналогичный период тканевой детрит отсутствовал. Рана частично эпидермизировалась. Эпидермис разной толщины с очагами акантоза. По периферии раны эпидермис являлся полнослойным, к центру истончался. Дно дефекта было представлено созревающей грануляционной тканью, богатой сосудами и клетками (лимфоцитами, моноцитами, фибробластами и фиброцитами). Волокна ее располагались плотно и параллельно поверхности.

В группе 3 (РП с нановолокнами хитозана) на 21-е сутки раневой дефект был выполнен полнослойным эпидермисом (определялись все слои), иногда со слабо выраженным акантозом. Соединительная ткань заполняла все ложе раны, васкуляризация ее была значительно уменьшена. Признаки воспаления отсутствовали. Волокна располагались плотно и параллельно поверхности, между ними находились фибробласты. Дерма была представлена вновь образованной, но богатой фиброцитами соединительной тканью. Местами дерма образовывала уже сосочковый слой. При этом соединительнотканые сосочки вдавались в эпидермис, образуя его прочное соединение с подлежащей дермой. В подкожной клетчатке определялось очаговое разрастание молодой соединительной ткани, также богатой фибробластами.

Морфометрические регенераторные характеристики были следующие: к 7-м суткам после моделирования отморожений наблюдалась незначительная положительная динамика уменьшения раневой поверхности в группах 2 и 3 в сравнении с группой 1, имевшей статистически значимые различия ($p < 0,05^*$) в представленных выборках. К 11-м суткам отмечалось достоверное ускорение заживления ран в группе 3, тогда как в группах 1 и 2 скорость уменьшения раневой поверхности оставалась прежней. Максимальная скорость заживления на протяжении эксперимента определялась в группе 3 – 4,8 % в сутки, в то время как в группах 1 и 2 она составила 3,4 и 3,7 % соответственно. К 21-м суткам в группе 3 наблюдалась полная эпителизация раны, тогда как в группах 1 и 2 сохранялись раневые дефекты площадью $84,5 \pm 3,7$ и $66,7 \pm 7,8$ мм², заживление которых отмечалось на 29-е и 27-е сутки соответственно (см. таблицу, рис. 4).

Результаты статистических тестов и размеры ран на различных временных срезах

Statistical test results and wound size on various time slices

Сутки	Группа	Размеры ран, %				Тест Краскела-Уоллиса	Различия между группами
		Мин.	Макс.	М ± m	Me (Q1; Q3)		
7-е	1	76	79,4	78,27 ± 0,61	78,5 (78,1; 79,3)	$p < 0,05^*$	$p_{1-2} < 0,05^*$ $p_{1-3} < 0,05^*$
	2	71	73,1	72,15 ± 0,47	72,7 (71; 72,8)		
	3	69,5	71,2	70,33 ± 0,28	70,4 (70,1; 70,5)		
11-е	1	62,1	65,8	63,59 ± 0,63	63,5 (62,7; 63,9)	$p < 0,05^{**}$	$p_{1-2} < 0,05^*$ $p_{1-3} < 0,05^{**}$ $p_{2-3} < 0,05^{**}$
	2	56,1	59,5	58,1 ± 0,59	58,2 (57,7; 59)		
	3	40,6	42,4	41,51 ± 0,32	41,4 (41,1; 42)		
21-е	1	80,3	87,7	83,54 ± 1,41	84,5 (80,5; 84,7)	$p < 0,05^{**}$	$p_{1-2} < 0,05^*$ $p_{1-3} < 0,05^{**}$ $p_{2-3} < 0,05^{**}$
	2	59,3	74,9	67,35 ± 2,52	66,7 (66,4; 69,4)		
	3	0	0	0 ± 0	0 (0; 0)		

Примечание. $p < 0,05$ соответствует значениям: * – от 0,02 до 0,05; ** – $p < 0,02$.

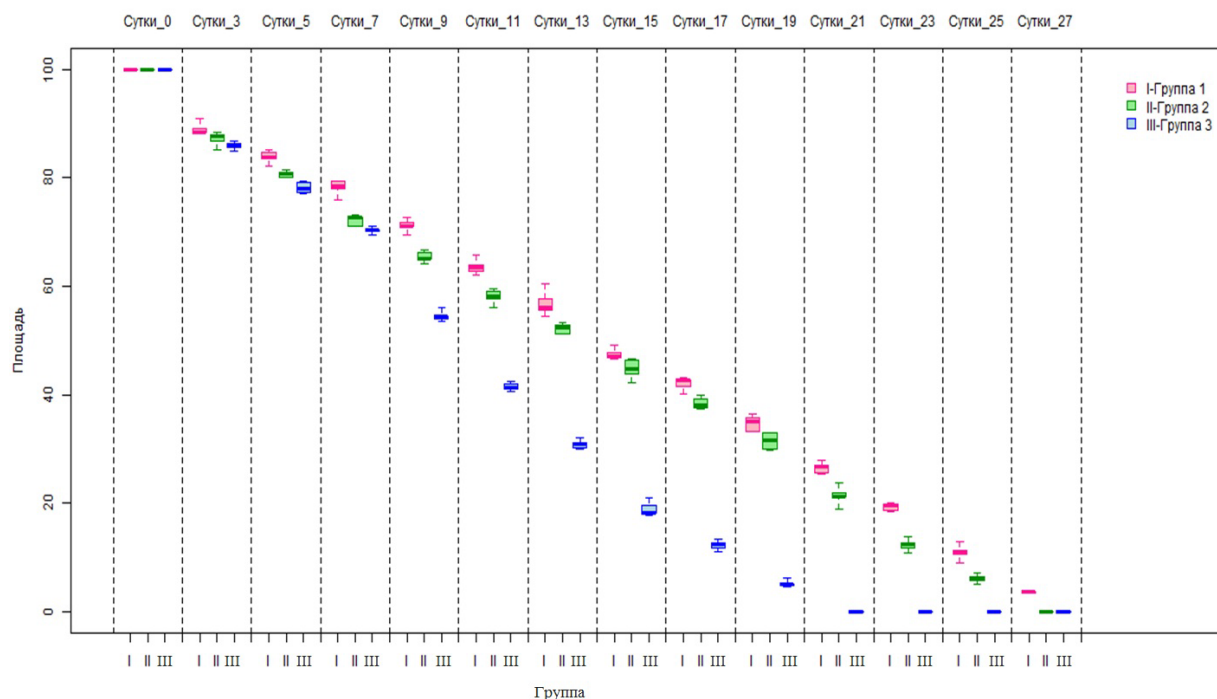


Рис. 4. Коробковые диаграммы заживления ран зоны отморожения во всех группах (временные срезы выражены в %)

Fig. 4. Box diagrams of wound healing of the frostbite area in all groups (time slices, %)

Таким образом, учитывая полученные морфометрические и гистологические данные, результаты статистического анализа, наиболее благоприятное влияние на раневой процесс при некрэктомии на 5-е сутки оказали РП с нановолокнами хитозана.

Заключение. В результате проведенного экспериментального исследования получены данные, подтверждающие эффективность применения раневых покрытий с нановолокнами хитозана в сочетании с некрэктомией зоны криовоздействия при лечении глубоких отморожений именно на 5-е сутки. Ранозаживляющие свойства разработанных раневых покрытий обусловлены тем, что хитозан оказывает регенераторное действие посредством ускорения очищения раны, активируя нейтрофильные лейкоциты и макрофаги, увеличения количества фибробластов в ране и синтеза коллагена в дерме. Применяемые нановолокна хитозана диаметром в диапазоне нанометров обеспечивают их очень большую площадь соприкосновения с поверхностью раны, что отражается в ускоренном заживлении раны в зоне криповреждения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Михайличенко, М. И. Прогнозирование осложнений у пациентов с местной холодовой травмой / М. И. Михайличенко, К. Г. Шаповалов, В. А. Мудров // Вестн. Нац. мед.-хирург. центра им. Н. И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 92–97.
2. Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite / Y. Gao [et al.] // Eur. J. Radiol. – 2021. – Vol. 137. – Art. 109605. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2021.109605>
3. Wilderness medical society clinical practice guidelines for the prevention and treatment of frostbite: 2019 update / S. E. McIntosh [et al.] // Wilderness and Environmental Medicine. – 2019. – Vol. 30, N 4S. – P. S19–S32. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.05.002>
4. Expert consensus on the prevention, diagnosis and treatment of cold injury in China / J. Hong-Xu [et al.] // Milit. Med. Res. – 2021. – Vol. 8. – Art. 6. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00295-z>
5. Меламед, В. Д. Инновационные раневые покрытия с нановолокнами хитозана / В. Д. Меламед // Новое в хирургии: наука, практика, обучение : сб. тез. докл. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию кафедры общей хирургии БГМУ (г. Минск, 24 сент. 2021 г.) / УО «Белорус. гос. мед. ун-т»; ред. С. А. Алексеев. – Минск, 2021. – С. 183–186.

6. Terra, M. Frostbite injury: a paragliding accident at 5500 meters / M. Terra, A. Vloemans, R. Breederveld // *Acta Chirurgica Belgica*. – 2013. – Vol. 113, N 2. – P. 143–145. <https://doi.org/10.1080/00015458.2013.11680900>
7. Gross, E. Using thrombolytics in frostbite injury / E. Gross, J. Moore // *J. Emerg. Trauma Shock*. – 2012. – Vol. 5, N 4. – P. 267–271. <https://doi.org/10.4103/0974-2700.99709>
8. Ingram, B. Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries / B. Ingram, R. Tyler // *Curr. Sports Med. Reports*. – 2013. – Vol. 12, N 2. – P. 125–130. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldw001>
9. The evolution of the Helsinki frostbite management protocol / A. Lindford [et al.] // *Burns*. – 2017. – Vol. 43, N 7. – P. 1455–1463. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2017.04.016>
10. Lorentzen, A. K. Interventions for frostbite injuries / A. K. Lorentzen, C. Davis, L. Penninga // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2020. – N 12. – P. 1–42. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012980.pub2>
11. Валентюкевич, А. Л. Устройство для моделирования отморожений различной степени тяжести : пат. BY 12002 / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед. – Опубл. 01.04.2019.
12. Меламед, В. Д. Раневое покрытие с нановолокнами хитозана «Хитомед-ранозаживляющее»: от доклинических исследований до регистрационного удостоверения / В. Д. Меламед, А. Л. Валентюкевич // *Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых* : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 140-летию со дня рождения проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Симферополь, 15–16 мая 2017 г. / РОО «Хирургическое общество – Раны и раневые инфекции» [и др.] ; ред. совет : В. А. Митиш [и др.]. – Симферополь, 2017. – С. 167–169.
13. STATISTICA: Data Mining, анализ данных, контроль качества, прогнозирование, обучение, консалтинг [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://statsoft.ru/>. – Дата доступа: 27.11.2019.
14. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing : R [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.r-project.org/about.html>. – Date of access: 01.05.2018.
15. Schneider, G. NSM3: Functions and Datasets to Accompany Hollander, Wolfe, and Chicken – Nonparametric Statistical Methods, Third Edition : NSM3 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://CRAN.R-project.org/package=NSM3>. – Дата доступа: 25.07.2019.
16. Pohlert, T. PMCMRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended : PMCMRplus [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus>. – Дата доступа: 23.04.2021.
17. Медик, В. Математическая статистика в медицине : в 2 т. / В. Медик, М. Токмачев. – 2-е изд., пер. и доп. – М. : Юрайт, 2018. – Т. 1. – 471 с.
18. Валентюкевич, А. Л. Экспериментальное моделирование отморожений различной степени тяжести у лабораторных животных. Часть 2. Морфологическая оценка эффективности устройства для моделирования контактных отморожений / А. Л. Валентюкевич, В. Д. Меламед, Н. И. Прокопчик // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та*. – 2021. – Т. 19, № 1. – С. 46–54.
19. Динамика репаративных процессов при экспериментальной термической травме в условиях применения трансдермальной пленки с эритропозитином / М. В. Осиков [и др.] // *Совр. проблемы науки и образования*. – 2017. – № 1. – С. 32.
20. Меламед, В. Д. Применение раневых покрытий с нановолокнами хитозана после ранней некрэктомии при лечении экспериментальных отморожений (морфогистологические характеристики) / В. Д. Меламед, А. Л. Валентюкевич, А. А. Островский // *Хирургия. Вост. Европа*. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 470–483.

References

1. Mikhailichenko M. I., Shapovalov K. G., Mudrov V. A. Predicting complications in patients with local cold injury. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni N. I. Pirogova* [Bulletin of Pirogov National Medical Surgical Center], 2020, vol. 15, no. 2, pp. 92–97 (in Russian).
2. Gao Y., Wang F., Zhou W., Pan Sh. Research progress in the pathogenic mechanisms and imaging of severe frostbite. *European Journal of Radiology*, 2021, vol. 137, art. 109605. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2021.109605>
3. McIntosh S. E., Freer L., Grissom C., Auerbach P., Rodway G. W., Cochran A. [et al.]. Wilderness medical society clinical practice guidelines for the prevention and treatment of frostbite: 2019 update. *Wilderness and Environmental Medicine*, 2019, vol. 30, no. 4S, pp. S19–S32. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.05.002>
4. Hong-Xu J., Yue T., Jing D., Xiao-Dong Zh. Expert consensus on the prevention, diagnosis and treatment of cold injury in China. *Military Medical Research*, 2021, vol. 8, art. 6. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00295-z>
5. Melamed V. D. Innovative wound dressings with chitosan nanofibers. *Novoe v khirurgii: nauka, praktika, obuchenie: sbornik tezisov dokladov Respublikanskoj nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchenoi 100-letiyu kafedry obshchei khirurgii BGMU (Minsk, 24 sentyabrya 2021)* [New in surgery: science, practice, education: collection of abstracts of the Republican scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 100th anniversary of the Department of General Surgery of the Belarusian State Medical University (Minsk, September 24, 2021)]. Minsk, 2021, pp. 183–186 (in Russian).
6. Terra M., Vloemans A., Breederveld R. Frostbite injury: a paragliding accident at 5500 meters. *Acta Chirurgica Belgica*, 2013, vol. 113, no. 2, pp. 143–145. <https://doi.org/10.1080/00015458.2013.11680900>
7. Gross E., Moore J. Using thrombolytics in frostbite injury. *Journal of Emergencies Trauma Shock*, 2012, vol. 5, no. 4, pp. 267–271. <https://doi.org/10.4103/0974-2700.99709>
8. Ingram B., Tyler R. Recognition and treatment of freezing and nonfreezing cold injuries. *Current Sports Medicine Reports*, 2013, vol. 12, no. 2, pp. 125–130. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldw001>

9. Lindford A., Valtonen J., Hult M., Kavola H., Lappalainen K., Lassila R., Aho P., Vuola J. The evolution of the Helsinki frostbite management protocol. *Burns*, 2017, vol. 43, no. 7, pp. 1455–1463. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2017.04.016>
10. Lorentzen A. K., Davis C., Penninga L. Interventions for frostbite injuries. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, no. 12, pp. 1–42. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012980.pub2>
11. Valentyukevich A. L., Melamed V. D. *Device for simulation of frostbite of varying severity: pat. BY 12002*. – Opubl. 01.04.2019 (in Russian).
12. Melamed V. D., Valentyukevich A. L. Wound dressing with chitosan nanofibers “Chitomed-wound healing”: from preclinical studies to registration certificate. *Khirurgicheskie infektsii kozhi i myagkikh tkanei u detei i vzroslykh : materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 140-letiyu so dnya rozhdeniya professora V. F. Voyno-Yasenetskogo (15–16 maya 2017, Simferopol’)* [Surgical infections of the skin and soft tissues in children and adults: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 140th anniversary of the birth of Professor V. F. Voyno-Yasenetsky (May 15–16, 2017, Simferopol)]. Simferopol, 2013, pp. 167–169 (in Russian).
13. *STATISTICA: Data Mining, data analysis, quality control, forecasting, training, consulting*. Available at: <http://stat-soft.ru/> (accessed 27.11.2019) (in Russian).
14. *R Core Team. (2018) R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Available at: <https://www.r-project.org/about.html> (accessed 01.05.2018).
15. Schneider G., Chicken E., Becvarik R. *NSM3: Functions and Datasets to Accompany Hollander, Wolfe, and Chicken – Nonparametric Statistical Methods, Third edition*. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=NSM3> (accessed 25.07.2019).
16. Pohlert T. *PMC MRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended*. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus> (accessed 23.04.2021).
17. Medik V., Tokmachev M. *Mathematical statistics in medicine. 2nd ed., trans. and add. Vol. 1*. Moscow, Yurait Publ. 471 p. (in Russian).
18. Valentyukevich A. L., Melamed V. D., Prokopchik N. I. Experimental modeling of frostbite of varying severity in laboratory animals. Part 2. Morphological assessment of the effectiveness of the device for modeling contact frostbite. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 46–54 (in Russian).
19. Osikov M. V., Simonyan E. V., Saedgalina O. T., Goloshchapova Zh. A., Biryukova T. I. Dynamics of reparative processes in experimental thermal trauma under the conditions of using a transdermal film with erythropoietin. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*, 2017, no. 1, p. 32 (in Russian).
20. Melamed V. D., Valentyukevich A. L., Ostrovskii A. A. The use of wound dressings with chitosan nanofibers after early necrectomy in the treatment of experimental frostbite (morphological and histological characteristics). *Khirurgiya. Vostochnaya Evropa = Surgery. Eastern Europe*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 470–483 (in Russian).

Информация об авторах

Меламед Владимир Дмитриевич – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: alllotransplan@mail.ru

Валентюкевич Артем Леонидович – ассистент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: artem.valentyukevich@mail.ru

Прокоччик Николай Иванович – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: prokopni@mail.ru

Information about the authors

Vladimir D. Melamed – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: alllotransplan@mail.ru

Artem L. Valentyukevich – Assistant. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: artem.valentyukevich@mail.ru

Nikolay I. Prokopchik – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: prokopni@mail.ru