

Динаміка загоєння холодкових ран шкіри, рівень пероксидації ліпідів та лейкоцитарний профіль крові щурів на фоні введення екстрактів тваринного походження

UDC 616.5-001.19:577.115:615.36

A.V. SHINDER, S.YE. GALCHENKO*, L.V. OSTANKOVA, O.P. SYNCHUKOVA

Dynamics of Healing of Skin Cold Wounds, Lipid Peroxidation Level and Leucocyte Profile of Rat's Blood Against the Background of Animal Extract Introduction

Досліджено вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней (ЕСС) і екстракту підмору бджіл (ЕПБ) на динаміку загоєння холодкових ран шкіри, рівень ПОЛ та показники крові щурів лінії Вістар і Сфінкс. Встановлено, що холодкові рани у щурів Сфінкс загоюються повільніше, ніж у щурів лінії Вістар. Уведення ЕСС або ЕПБ прискорює загоєння ран, нормалізує показники крові та знижує рівень пероксидації ліпідів. Екстракт селезінки має більшу біологічну активність, ніж екстракт бджіл.

Ключові слова: холодова рана, загоєння, екстракт селезінки, екстракт підмору бджіл.

Изучено влияние экстракта креноксервированных фрагментов селезенки свиней (ЭСС) и экстракта подмора пчел (ЭПП) на динамику заживления холодковых ран кожи, уровень ПОЛ и показатели крови крыс линии Вистар и Сфинкс. Установлено, что холодковые раны у крыс Сфинкс заживают медленнее, чем у крыс линии Вистар. Введение ЭСС или ЭПП ускоряет заживление ран, нормализует показатели крови и снижает уровень пероксидации липидов. Экстракт селезенки обладает большей биологической активностью, чем экстракт пчел.

Ключевые слова: холодовая рана, заживление, экстракт селезенки, экстракт подмора пчел.

There was examined the effect of the extract of cryopreserved fragments of porcine spleen (PSE) and the one of dead bee bodies (DBBE) on the dynamics of healing of skin cold wounds, LPO level and the blood indices of Wistar and Sphynx rats. It has been established that healing of cold wounds in Sphynx rats proceeds slower if compared with those for Wistar ones. The introduction of PSE and DBBE accelerates the healing of wounds, normalizes blood counts and reduces the level of lipid peroxidation. Porcine spleen extract has higher biological activity versus the bee's extract.

Key-words: skin cold wounds, healing, spleen extract, dead bee body extract.

Кількість захворювань злоякісними пухлинами шкіри неухильно зростає. Вони, як правило, піддаються комбінованому лікуванню (передопераційний курс хіміо- або променевої терапії з подальшим оперативним втручанням). Для видалення пухлин часто використовують кріодеструкцію, оскільки цей метод є найменш травматичним, не має протипоказань для лікування злоякісних новоутворень зовнішніх локалізацій, а в деяких випадках є методом вибору [8].

Хіміо- і променева терапія пригнічує імунологічну реактивність організму, уповільнює процеси репаративної регенерації після оперативних втручань [8, 10]. При цьому активується перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), яке також уповільнює процес загоєння ран [7]. Таким чином, нормалізація процесу регенерації шкіри, скорочення термінів лікування після холодової травми, в тому числі на тлі імунodefіцитного стану організму, є актуальною задачею.

Skin malignant neoplasm morbidity has steadily increased. As a rule in this case the treatment is combined (pre-operation sessions of chemo- or radiotherapy with following surgery). To remove the tumors the cryodestruction is often used, because this method is less traumatic, has no contraindications for treating malignant neoplasms of outer localizations and in some cases is the selection method [8].

Chemo- and radiotherapies suppress immunologic reactivity of an organism, slow the processes of reparative regeneration after surgeries [8, 10]. Herewith lipid peroxidation (LPO), slowing down the process of wound healing, activates [7]. Thus, the normalization of the process of skin regeneration, reduction of the treatment terms after cold trauma, including those on the background of immune deficient state of an organism is an actual task.

It has been shown that the extract of cryopreserved fragments of porcine spleen (PSE) normalizes an

Показано, що екстракт криоконсервованих фрагментів селезінки свиней (ЕСС) нормалізує імунний статус організму, зокрема систему Т-лімфоцитів [2], які приймають активну участь в регуляції регенерації [4]. Відомо, що екстракт підмору бджіл (ЕПБ) має виражену антиоксидантну активність [5]. Ці факти дозволили припустити, що вказані вище екстракти сприятимуть прискоренню і нормалізації загоєння холодкових ран у тварин, у тому числі з ослабленою імунною системою.

Мета роботи – дослідити вплив екстракту криоконсервованих фрагментів селезінки свиней і екстракту, одержаного з підмору бджіл, на динаміку загоєння холодкових ран шкіри, рівень ПОЛ та показники крові щурів лінії Вістар і безшерстих щурів Сфінкс.

Матеріали і методи

Експерименти проведено відповідно до “Загальних принципів експериментів на тваринах”, схвалених II Національним конгресом з біоетики (2004 р., Київ, Україна) і узгоджених з положеннями “Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Екстракт селезінки свиней одержували за методом [9], а ЕПБ – екстракцією бджолиного підмору в апараті Соклета. Екстракти вводили щурам у черевну порожнину по 1 мл один раз на добу. Концентрація пептидів в ЕСС становила 100 мкг/мл, а в ЕПБ – 0,25 мг сухої речовини/мл.

Холодову травму шкіри моделювали на 18 щурах лінії Вістар і 18 щурах Сфінкс масою 190–210 г. Для визначення досліджуваних показників в нормі було використано по 6 тварин. У дослідних щурів лінії Вістар видаляли шерсть на стегні. Холодову травму наносили охолодженим в рідкому азоті мідним аплікатором діаметром 10 мм, експозиція становила 60 с. Щури з холодовою травмою були розділені на групи: контрольні (введення фізіологічного розчину) та дослідні (введення ЕСС або ЕПБ).

Площу ран визначали за методом [6], а інтенсивність ПОЛ – спектрофотометричним методом за рівнем продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти, ТБКАП) у сироватці крові [1]. При повній епітелізації ранового дефекту вважали, що рана загоїлася. Для визначення стійкості до перекисного окислення в ячку хемілюмінометра, яка містить 1 мл фізіологічного розчину і 100 мкл сироватки крові, додавали 200 мкл 5%-го розчину перекису водню і реєстрували світлосуму в умовних одиницях [3]. Аналіз лейкоцитарної формули проводили на мазках, забарвлених азур II – еозином за Романовським-Гімза, підраховуючи по 500 клітин у світловому мікроскопі (ЛОМО, об. ×90, ок. ×10) [6]. Кров для досліджень брали з хвостової вени тварин.

immune status of an organism, in particular, of T-lymphocyte system [2], participating actively in regeneration regulation [4]. It is known that the extract of dead bee bodies (DBBE) has manifested antioxidant activity [5]. These facts enabled the suggestion that the above mentioned extracts contributed to acceleration and normalization of healing of cold wounds in animals, including those with weakened immune system.

The research aim is to investigate the effect of the extract of cryopreserved fragments of porcine spleen and the extract derived from the dead bee bodies, on the dynamics of healing of skin cold wounds, LPO level and the blood counts in Wistar and Sphynx rats.

Materials and methods

The experiments were performed according to the “General principles of experiments in animals”, approved by the 2nd National Congress in Bioethics (2004, Kyiv, Ukraine) and coordinated with the guidelines of “European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes” (Strasbourg, 1985).

Porcine spleen extract was derived with the method [9], and DBBE one with the extraction of dead bee bodies in Soxhlet apparatus. The extracts were introduced to the rats into peritoneal cavity by 1 ml once a day. The concentration of peptides in PSE made 100 mg/ml and 0.025 mg of dry substance/ml in DBBE.

Skin cold trauma was simulated in 18 Wistar and 18 Sphynx rats of 190–210g. To examine the parameters under study in the norm there were used 6 animals. In the experimental rats the hair on a hip was removed. Cold trauma was accomplished with liquid nitrogen-cooled copper applicator of 10 mm diameter, the exposure time was 60 seconds. The rats with cold trauma were divided into the following groups: control (introduction of physiological solution) and experimental (introduction of either PSE or DBBE).

The square of wounds was found with the method [6] and LPO intensity was spectrophotometrically determined on the rate of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in blood serum [1]. At a complete epithelialization of wound defect there was assumed that the wound healed. To reveal the steadiness to lipid peroxidation into the chemiluminometer well with 1 ml of physiological solution and 100 ml of blood serum there were added 200 ml 5% hydrogen peroxide solution and the light sum was recorded in relative units [3]. Leucocyte formula was analyzed on the smears stained with azur II-eosin according to Romanovsky-Giemsa, with counting 500 cells in light microscope (LOMO, ob.×90, oc.×10) [6]. Blood for the research was derived from tail vein of animals.

The results were statistically processed with non-parametric MANOVA method. The quantitative data are presented in mean values and mean square errors.

Статистичну обробку результатів проводили непараметричним методом MANOVA. Кількісні дані представлені в середніх величинах і середніх квадратичних похибках.

Результати та обговорення

На 3-ю добу експерименту відмінностей в стані і площі ран у щурів контрольних і дослідних груп не спостерігалось (табл. 1). На 7-му добу у контрольних щурів Сфінкс, на відміну від щурів лінії Вістар, площа ран збільшилася, що свідчить про подальший розвиток запальної реакції і деструктивних процесів у зоні травми. У наступні терміни спостереження загоєння ран у групі щурів Сфінкс було повільнішим. Введення щурам ЕСС або ЕПБ статистично достовірно, в порівнянні з контролем, прискорювало загоєння ран, проте і за цих умов рани у щурів Сфінкс загоювались повільніше. Найбільш виражене зменшення площі ран спостерігалось в обох дослідних групах при введенні ЕСС.

Концентрація ТБКАП в сироватці крові підвищується при різних патологічних процесах в організмі і побічно свідчить про вираженість запального процесу, який супроводжується інтенсифікацією процесу ПОЛ. Відомо також, що при імунодефіцитних станах, стресовому навантаженні та інших негативних факторах можуть виснажуватися системи контролю за рівнем інтенсивності ПОЛ [3].

На 3-ю і 7-му добу експерименту рівень ТБКАП в сироватці крові щурів статистично достовірно перевищував цей показник у нормі майже у всіх випадках (табл. 2), за винятком тварин лінії Вістар,

Results and discussion

To the 3rd day of experiments no differences in the state and square of wounds in the rats of the control and research groups were found (Table 1). To the 7th day in the control Sphynx rats in contrast to Wistar ones the square of wounds increased, that testified to the following development of inflammation reaction and destructive processes in trauma zone. For further observation terms the healing of wounds in Sphynx rat group proceeded more slowly. Introduction of PSE and DBBE to rats statistically and significantly accelerated the healing of wounds comparing to the control, but even under these conditions the healing of wounds in Sphynx rats was slowed down. The most manifested reduction of square of wounds was found in both research groups during PSE introduction.

The concentration of TBARS in blood serum increased under different pathological processes in an organism and indirectly testifies to the manifestation of inflammation LPO process. Its is also known that under immune deficient states, stress load and other negative factors the systems controlling the LPO intensity level may exhaust [3].

To the 3rd and 7th day the experimental level of TBARS in blood serum of rats statistically and significantly accelerated this index in the norm almost in all the cases (Table 2), except the animals of Wistar which were introduced with PSE. In the animals of this group the TBARS level in blood serum normalized even to the 7th day. Under all the experimental conditions in Wistar rats no statistical and significant differences in TBARS level if compared with the cont-

Таблиця 1. Площа холодних ран (см²) у щурів в залежності від умов експерименту
Table 1. Square of cold wounds, cm², in rats depending on the experimental conditions

Строк спостереження, доба Observation term, days	Щури Rats					
	Вістар Wistar			Сфінкс Sphynx		
	Контроль Control	Введення ЕСС Introduction of PSE	Введення ЕПБ Introduction of DBBE	Контроль Control	Введення ЕСС Introduction of PSE	Введення ЕПБ Introduction of DBBE
3	3,7 ± 0,4	3,0 ± 0,3	3,4 ± 0,4	4,9 ± 0,5	4,4 ± 0,5	5,0 ± 0,6
7	3,3 ± 0,3	2,1 ± 0,2 ¹	2,9 ± 0,3	6,6 ± 0,7 ³	2,2 ± 0,3 ¹	3,6 ± 0,3 ^{1,2}
14	2,1 ± 0,3	0,3 ± 0,1 ¹	1,3 ± 0,1 ^{1,2}	4,1 ± 0,4 ³	1,1 ± 0,1 ^{1,3}	2,9 ± 0,2 ^{1,2,3}
21	1,0 ± 0,1	Загоєння Healing	0,5 ± 0,1 ^{1,2}	2,0 ± 0,1 ³	0,5 ± 0,1 ^{1,3}	1,1 ± 0,1 ^{1,2,3}

Примітки: ¹ – відмінності статистично достовірні в порівнянні з контролем (рана), p < 0,05; ² – відмінності статистично достовірні в порівнянні з введенням ЕСС, p < 0,05; ³ – відмінності статистично достовірні в порівнянні з аналогічною групою щурів лінії Вістар, p < 0,05.

Notes: ¹ – differences are statistically significant if compared with the control (wound), p < 0.05; ² – differences are statistically significant if compared with PSE introduction, p < 0.05; ³ – differences are statistically significant if compared with the same group of Wistar rats, p < 0.05.

Таблиця 2. Рівень ТБКАП (ммоль/л) в сироватці крові щурів з холодовою раною
Table 2. Level of TBARS, mmol/l in blood serum of rats with cold wound

Строк спостереження, доба Observation term, days	Щури Rats					
	Вістар Wistar			Сфінкс Sphynx		
	Контроль Control	Введення ЕСС Introduction of PSE	Введення ЕПБ Introduction of DBBE	Контроль Control	Введення ЕСС Introduction of PSE	Введення ЕПБ Introduction of DBBE
3	6,19 ± 0,51 ¹	5,41 ± 0,37 ¹	5,83 ± 0,44 ¹	8,48 ± 0,64 ^{1,3}	7,40 ± 0,56 ^{1,3}	7,93 ± 0,59 ^{1,3}
7	5,45 ± 0,42 ¹	4,20 ± 0,32	5,48 ± 0,49 ¹	9,92 ± 0,76 ^{1,3}	6,09 ± 0,49 ^{1,2}	7,56 ± 0,55 ^{1,2,3}
14	4,28 ± 0,31	4,01 ± 0,30	4,11 ± 0,34	7,99 ± 0,53 ^{1,3}	5,27 ± 0,44 ²	6,18 ± 0,43 ^{2,3}
21	4,02 ± 0,26	3,72 ± 0,23	4,25 ± 0,38	5,21 ± 0,41	4,99 ± 0,40	5,06 ± 0,48

Примітки: ¹ – відмінності статистично достовірні в порівнянні з нормою, $p < 0,05$; ² – відмінності статистично достовірні в порівнянні з контролем (рана), $p < 0,05$; ³ – відмінності статистично достовірні в порівнянні з аналогічною групою щурів лінії Вістар, $p < 0,05$; рівень ТБКАП в нормі у щурів лінії Вістар – $3,98 \pm 0,25$, щурів Сфінкс – $4,85 \pm 0,31$.

Notes: ¹ – differences are statistically significant if compared with the norm, $p < 0.05$; ² – differences are statistically significant if compared with the control (wound), $p < 0.05$; ³ – differences are statistically significant if compared with the same group of Wistar rats, $p < 0.05$; the TBA level in the norm in Wistar rats – 3.98 ± 0.25 and in Sphynx one is 4.85 ± 0.31 .

яким вводили ЕСС. У тварин цієї групи рівень ТБКАП в сироватці крові нормалізувався вже на 7-му добу. За всіх умов експерименту у щурів лінії Вістар статистично достовірних відмінностей в рівні ТБКАП в порівнянні з контролем не спостерігалось. У щурів Сфінкс цей показник був нижчим за контрольні значення на 7-му і 14-ту добу при введенні як ЕСС, так і ЕПБ. Такі особливості динаміки вмісту ТБКАП в сироватці крові пов'язані з тим, що при холодовій травмі у щурів Сфінкс процеси ПОЛ активізуються більше. Статистично достовірне перевищення вмісту ТБКАП у щурів Сфінкс в порівнянні з щурами лінії Вістар відмічалось до 14-ї доби експерименту як в контролі, так і при введенні ЕПБ. Більш виражена активація процесів ПОЛ у щурів Сфінкс може бути пов'язана з меншою резервною потужністю і виснаженням антиоксидантних систем при холодовій травмі.

Функціонування різних ланок антиоксидантної системи забезпечує підтримку постійного рівня продуктів ПОЛ з їх збільшенням при патологічних станах. Антиоксидантні резерви буферних систем можуть виявитися недостатніми для збереження окислювального гомеостазу.

На даний час загальноприйнятим методом виявлення резервних можливостей ендогенної антиоксидантної системи є реєстрація хемілюмінесценції, індукованої перекисом водню. Світлосума хемілюмінесценції, індукованої перекисом водню, обернено пропорційна активності антиоксидантів, присутніх в системі. Світлосума хемілюмінесценції сироватки крові інтактних щурів лінії Вістар складала 127 ± 13 ум. од., а щурів Сфінкс –

роль were found. In Sphynx rats this index was lower than the control values to the 7th and 14th day both during introduction of PSE and DBBE. These peculiarities of the dynamics of TBARS content in blood serum is related to the fact that at cold trauma in Sphynx rats the LPO processes are more activated. Statistically significant rise in the TBARS content in Sphynx rats if compared with those for Wistar ones was found up to 14th day of experiments both in the control and under PSE introduction. The most manifested activation of LPO processes in Sphynx rats may be related to with less reserve power and exhaustion of antioxidative systems at cold trauma.

Functioning of different links of antioxidative system provides the support of constant level of LPO products with their increase under pathological states. Antioxidant stocks of buffer systems may be insufficient for preserving the oxidative homeostasis.

Now the traditional method for revealing the spare capacities of endogeneous anti-oxidative system is the recording of hydrogen peroxide-induced chemiluminescence. Light sum of hydrogen peroxide-induced chemiluminescence is inversely proportional to the activity of anti-oxidants present in the system. The light sum of chemiluminescence of blood serum of intact Wistar rats made 127 ± 13 rel. units and 279 ± 24 rel. units for Sphynx ones, that testifies to less spare power of antioxidative systems in these animals.

The dynamics of wound healing in experimental animals may be related to different state and specificity of the response of immune system to trauma. The content of neutrophil leucocytes in the control group of Wistar rats makes 12.9% and 9.8% for Sphynx rats

Таблиця 3. Лейкоцитарний профіль крові щурів з холодовими травмами на 14-ту добу експерименту
Table 3. Leucocyte profile of blood for the rats with cold trauma to the 14th experimental day

Тварини та умови експерименту Animals and experimental conditions		Клітини Cells					
		Нейтрофіли Neutrophils			Еозинофіли Eosinophils	Моноцити Monocytes	Лімфоцити Lymphocytes
		Юні Juvenile	Паличко- ядерні Banded	Сегменто- ядерні Segmented			
Вістар Wistar	Норма Norm	–	0,6 ± 0,1	12,3 ± 1,2	3,4 ± 0,3	3,0 ± 0,4	80,8 ± 7,9
	Контроль Control	–	1,8 ± 0,2	29,3 ± 2,6	6,9 ± 0,5	2,2 ± 0,2 ¹	59,8 ± 2,7
	Введення ЕСС Introduction of PSE	–	0,7 ± 0,1 ^{1,2}	24,9 ± 2,2	2,9 ± 0,2 ^{1,2}	4,9 ± 0,4 ²	66,6 ± 3,2 ¹
	Введення ЕПБ Introduction of DBBE	–	1,8 ± 0,1	27,3 ± 2,3	6,4 ± 0,4	2,6 ± 0,2 ¹	61,9 ± 3,4
Сфінкс Sphynx	Норма Norm	–	0,5 ± 0,1	9,4 ± 0,6	2,9 ± 0,7	2,8 ± 0,5	84,8 ± 5,0
	Контроль Control	–	2,4 ± 0,1 ³	39,5 ± 3,0	7,4 ± 0,4	1,1 ± 0,1 ³	49,6 ± 4,1
	Введення ЕСС Introduction of PSE	–	1,1 ± 0,1 ^{2,3}	29,3 ± 2,2 ²	3,2 ± 0,3 ^{1,2}	4,0 ± 0,2 ²	62,4 ± 4,9
	Введення ЕПБ Introduction of DBBE	–	2,9 ± 0,2 ³	34,4 ± 0,2	6,8 ± 0,5	1,2 ± 0,1 ³	54,6 ± 5,1

Примітки: ¹ – відмінності статистично недостовірні в порівнянні з нормою, $p > 0,05$; ² – відмінності статистично достовірні в порівнянні з раною, $p < 0,05$; ³ – відмінності статистично достовірні в порівнянні з аналогічною групою щурів лінії Вістар, $p < 0,05$.

Notes: ¹ – differences are statistically insignificant if compared with the norm, $p > 0.05$; ² – differences are statistically significant if compared with wound, $p < 0.05$; ³ – differences are statistically significant if compared with the same group of Wistar rats, $p < 0.05$.

279 ± 24 ум. од., що свідчить про меншу резервну потужність антиоксидантних систем у цих тварин.

Динаміка загоєння ран у дослідних тварин може бути пов'язана з різним станом і специфічністю реакції імунної системи на травму. Вміст нейтрофільних лейкоцитів у контрольній групі щурів лінії Вістар складає 12,9%, а Сфінкс – 9,8% (табл. 3). При цьому статистично достовірних відмінностей в процентному вмісті еозинофілів та моноцитів не відмічалось. У відповідь на холодову травму збільшувався відносний вміст нейтрофілів у щурів лінії Вістар до 31,1%, а Сфінкс – до 41,9%. Найбільший зсув вліво встановлено у щурів Сфінкс – кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшувалась в 4,8 рази при підвищенні сегментоядерних нейтрофілів у 4,2 рази. У щурів лінії Вістар кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшувалась в 3 рази, а сегментоядерних – в 2,4. При введенні ЕСС на фоні загального лейкоцитозу реакція крові на травму була виражена менше. Введення ЕПБ впливає на вираженість запальної реакції менш ефективно, ніж ЕСС.

(Table 3). Herewith no statistically significant differences in percentage of eosinophils and monocytes were noted. In response to cold trauma the relative content of neutrophils in Wistar rats increased up to 31.1% and to 41.9% in Sphynx rats. The biggest shift leftward was found for Sphynx rats, the number of banded neutrophils increase in 4.8 times with the rise in segmented neutrophils in 4.2. In Wistar rats the number of banded neutrophils enhanced thrice and in 2.4 times for segmented ones. During introduction of PSE on the background of total leucocytosis the blood response to trauma was less manifested. The introduction of DBBE affects the manifestation rate of inflammation reaction less effectively if compared with the PSE one.

Conclusions

Cold wounds in Sphynx rats are healed slower than in Wistar ones. The introduction of the studied extracts accelerates the healing of wounds, normalizes blood indices and reduces the LPO rate for all the investigated animals. Biological activity of PSE is higher versus DBBE one.

Висновки

Холодові рани у щурів Сфінкс загоюються повільніше, ніж у щурів лінії Вістар. Уведення досліджених екстрактів прискорює загоєння ран, нормалізує показники крові та зменшує рівень пероксидації ліпідів у всіх дослідних тварин. Біологічна активність ЕСС більша, ніж ЕПБ.

Література

1. Арутунян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. рекомендации.– СПб, 2000.– С. 46–50.
2. Бызов В.В., Высеканцев И.П., Гальченко С.Е., Сандомирский Б.П. Влияние эндобронхиального введения экстракта криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки на некоторые факторы местного иммунитета в комплексной терапии больных с абсцессами легких // Пробл. криобиологии.– 2001.– №4.– С. 65–70.
3. Вавин Г.В., Бунина О.Г. Модификация хемилуминесцентного метода изучения процессов свободнорадикального окисления // Эксперимент. и клин. фармакология.– 2002.– №2.– С. 63–66.
4. Донцов В.И. Регуляция лимфоцитами клеточного роста соматических тканей и новая иммунная теория старения. Обзор // Профилактика старения.– 1998.– Вып. 1.– С. 40–63.
5. Ермакова Н.Ю., Кадникова Н.Г., Рошаль А.Д. и др. Биологическая активность экстрактов пчел в зависимости от способа получения // Пробл. криобиологии.– 2006.– Т. 16, №2.– С. 192–200.
6. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Під ред. І.П. Кайдашева.– Полтава: Полімет, 2003.– 319 с.
7. Мовчан К.Н., Хижа В.Д., Прохода И.А. и др. Пути повышения эффективности антиоксидантной терапии у пострадавших с обширными глубокими ожогами // Мед. акад. журнал.– 2007.– Т.7, №3.– С. 241–242.
8. Приходько С.Г., Мартынюк В.В. Криохирurgia злокачественных опухолей полости рта и кожи // Стоматология.– 2001.– Т. 2.– С. 50–52.
9. Пат. 64381 А Україна, МПК⁷ А61К35/12. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів / С.Є. Гальченко, Н.Ю. Шкодовська, Б.П. Сандомирський, В.І. Грищенко. Заявлено 22.05.2003; Опубл. 16.02.2004.– Бюл. №2.
10. Kufflik E.G. Cryosurgery for skin cancer: 30-year experience and cure rates // Dermatol. Surg.– 2004.– Vol. 30, N2.– P. 297–300.

Надійшла 19.05.2009
Рецензент О.К. Гулевський

References

1. Arutunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. Methods of estimation of free radical oxidation and antioxidative system of organism: Methodical recommendations. – Saint Petersburg; 2000.– P. 46–50.
2. Byzov V.V., Vysekantsev I.P., Galchenko S.Ye., Sandomirsky B.P. Effect of endobronchial introduction of extract of cryopreserved xenospleen fragments on some local immunity factors in complex therapy of patients with lungs abscesses// Problems of Cryobiology.– 2001.– N4.– P. 65–70.
3. Vavin G.V., Bunina O.G. Modification of chemiluminescent method of study of processes of free radical oxidation// Experiment i Klin Farmakologiya.– 2002.– N2.– P. 63–66.
4. Dontsov V.I. regulation with lymphocytes of cell growth of somatic tissues and new immune theory of aging. Review // Profilaktika Stareniya.– 1998.– Issue 1.– P. 40–63.
5. Ermakova N.Yu., Kadnikova N.G., Roshal A.D. et al. Biological activity of apian extracts depending on the way of obtaining// Problems of Cryobiology.– 2006.– Vol. 16, N2.– P. 192–200.
6. Methods of clinical and experimental studies in medicine / Ed. by I.P. Kaydashev.– Poltava: Polimet, 2003.– 319 p.
7. Movchan K.N., Khizha V.D., Prokhoda I.A. et al. Ways of increasing the efficiency of antioxidative therapy in suffered with vast deep burns// Med. Akad. Zhurnal.– 2007.– Vol. 7, N3.– P. 241–242.
8. Prikhodko S.G., Martynyuk V.V. Cryosurgery of malignant oral and skin tumours // Stomatologiya.– 2001.– Vol. 2.– P. 50–52.
9. Patent 64381 A Ukraine, IPC⁷ A61K35/12. Method of obtaining the extracts of xenogenous organs/ S.Ye. Galschenko, N.Yu. Shkodovskaya, B.P. Sandomirsky, V.I. Grischenko. Applied 22.05.2003; Published. 16.02.2004.– Bul. N2.
10. Kufflik E.G. Cryosurgery for skin cancer: 30-year experience and cure rates // Dermatol. Surg.– 2004.– Vol. 30, N2.– P. 297–300

Accepted in 19.05.2009