

УДК: 616.12-002.4:577.151.3

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ИМПЛАНТАТА "НЕМОВЕН" НА МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ НА ФОНЕ ГИПОКОАГУЛЯЦИИ



Кадиров Марат Жалгасович¹, Хаджиев Данияр Шамуратович²

1 - Многопрофильный медицинский центр имени У. Холмуратова, Республика Каракалпакстан, г. Нукус;

2 – Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, Республика Узбекистан, г. Ургенч

ГИПОКОАГУЛЯЦИЯ ФОНИДА ЖИГАР ВА ТАЛОҚНИНГ ШИКАСТЛАНИШ МОДЕЛИДА "НЕМОВЕН" ГЕМОСТАТИК ИМПЛАНТИНИНГ ТАЪСИРИНИ ЎРГАНИШ

Кадиров Марат Жалгасович¹, Хаджиев Данияр Шамуратович²

1 - У.Холмуратов номидаги кўп тармоқли тиббиёт маркази, Қорақалпоғистон Республикаси, Нукус ш.;

2 – Тошкент тиббиёт академияси Урганч филиали, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

STUDY OF THE EFFECT OF THE HEMOSTATIC IMPLANT "HEMOBEN" ON MODELS OF LIVER AND SPLEEN DAMAGE AGAINST THE BACKGROUND OF HYPOCOAGULATION

Kadirov Marat Jalgasovich¹, Khadjiev Daniyar Shamuratovich²

1 - Multidisciplinary Medical Center named after U. Kholmuratov, Republic of Karakalpakstan, Nukus;

2 - Urgench branch of Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Urgench

e-mail: kadirov.marat@gmail.com

Резюме. Гипокоагуляция шароитида янги маҳаллий «HEMOBEN» гемостатик воситасининг самарадорлиги ўрганилди. Ҳайвонлар устидан олиб борилган тажрибаларда «HEMOBEN» порошоги қўлланилганда тез гемостазга эришилгани, қон кетишининг қайта пайдо бўлишини олдини олиш қобилияти ва тўқималарни қайта тикланишини рағбатлантириши аниқланди. Анъанавий гемостатик материаллар билан солиштирилганда, «HEMOBEN» қон йўқотишини камайтириши ва яллиғланиш асоратларини пасайтиришида устунлик кўрсатди.

Калит сўзлар: гемостаз, гипокоагуляция, HEMOBEN, қон кетиши.

Abstract. Studies of the effectiveness of the new domestic hemostatic agent "HEMOBEN" under hypocoagulation conditions have been conducted. Animal experiments have shown rapid achievement of hemostasis when using the powder "HEMOBEN", its ability to prevent re-bleeding and stimulate tissue regeneration. In comparison with traditional hemostatic materials, "HEMOBEN" demonstrates advantages in reducing blood loss and reducing inflammatory complications.

Key words: hemostasis, hypocoagulation, HEMOBEN, bleeding.

Актуальность исследования. В течение последних 20 лет произошел рывок в разработке гемостатических биоматериалов для биомедицинского применения, но и на сегодняшний день существующие методы гемостаза имеют ограничения по эффективности и могут вызвать дополнительное повреждение тканей. Некоторые важные вопросы биобезопасности, гемостатического эффекта и высокой стоимости попрежнему сильно ограничивают их широкое биомедицинское применение. Известные гемостатические агенты биологического происхождения, имеют высокую стоимость, короткий срок хранения и потенциальные побочные эффекты вирусного заражения. Li D (2020) считает, что высокая экзотермическая реактивность и плохая биоразлагаемость неорганических гемостатических материалов могут легко вызвать термическое повреждение и воспаление. Солдатова Д.С.

(2020) установила, что, благодаря достижению оптимальной конформации микрофибрилл полимера натрий-карбоксиметилцеллюлозы и оптимального расстояния между ними, при которых отмечается максимальное количество активных функциональных групп на локальном участке, можно усилить гидрофильность соединения. Кровоостанавливающая активность 6% геля может быть усилена при введении в его состав 5% раствора аминаокапроновой кислоты, что приводит к достоверно более быстрому снижению как времени, затраченного на данный процесс, так и величины кровопотери. Полученные результаты создают основу для дальнейшего поиска и разработки препаратов на основе 6% геля Na-КМЦ в комбинации с новыми веществами. С целью остановки кровотечения хирурги все чаще применяют различные гемостатические губки на основе коллагена и желатина, с компонентами крови,

фибриновые и цианакрилатные клеи и лаки. Эффективный и быстрый гемостаз критически важен при хирургических операциях и неотложных травмах. Гемостатические материалы, доступные в настоящее время, включают коллаген (Col), желатин (GE), альгинат (AG), хитозан (CS), окисленную целлюлозу, тканевый клей на основе цианоакриловой кислоты и пористый цеолит. Все они обладают эффективной функцией гемостаза, но имеют и недостатки. Chu TL считает, что сейчас, как никогда ранее, существует большой интерес к разработке новых эффективных кровоостанавливающих средств для достижения гемостаза.

Совершенствование методов местного гемостаза при травме живота представляет важную задачу современной хирургии. Помимо быстрой остановки кровотечения, эти методы должны обеспечить условия для быстрой регенерации и восстановления функциональной способности органов, предупреждения развития послеоперационных осложнений. Любое улучшение результатов оперативного лечения пациентов с травмой живота, уменьшение числа послеоперационных осложнений, в том числе связанных с рецидивом кровотечения, будет способствовать снижению летальности от травм.

Проведенный анализ литературы свидетельствует о том, что несмотря на значительный прогресс и полученные результаты, существует потребность в разработке более эффективных гемостатических технологий и биоматериалов для неотложных сценариев не только в военных травматичных условиях, но и во время различных хирургических вмешательств. В качестве альтернативы, необходимы крупные рандомизированные исследования, сравнивающие существующие кровоостанавливающие средства для оценки эффективности при контроле кровотечения. Также необходимы исследования, которые позволили бы подобрать соответствующие гемостатические средства с учетом механизма и локализации повреждений. В связи с этим экспериментальные и клинические исследования отечественного гемостатического средства с оценкой его эффективности является актуальным направлением для исследования.

Материал и методы исследования. Проведены исследования по оценке гемостатических свойств нового отечественного гемостатического имплантата

«HEMOBEN» в условиях искусственной гипокоагуляции с использованием медикаментозных препаратов. Для снижения свертывания крови в эксперименте использован препарат аспирина, который давался лабораторным животным в течение 2 недель из расчета 2,5 мг препарата на 250,0 г веса животного 3 раза в сутки вместе с приемом пищи. В группы исследований включены опыты на белых б/п лабораторных крысах весом 220-280 г. Животные содержались в отдельных клетках по 4 особи в условиях вивария, с полноценным питанием и постоянным обеспечением водой вдоволь. Опытная серия животных получала аспирин в указанной выше дозе путем растворения таблетки аспирина в воде. Контрольная группа животных получала плацебо.

Выполнялась срединная лапаротомия длиной до 3 см. Выводилась в рану левая доля печени. После повреждения поверхности печени абразивным материалом наступало кровотечение, которое носило смешанный характер.

Результаты исследования. В группе контроля, кровотечение без применения марлевых шариков практически не прекращалось. Небольшая остановка наступала на фоне снижения АД, но через короткое время возобновлялось. Наблюдение за состоянием раны печени в течение 10 минут выявила эпизоды повторного кровотечения в 50% случаев.

В опытной группе животных кровотечение останавливали путем присыпки гемостатического порошка «HEMOBEN» на рану, сразу же после просушивания поверхности марлевым шариком (рис. 1-4). Результаты исследований показали, что гемостаз после нанесения гемостатического порошка наступал за короткое время. Адгезия и прочность порошка способствуют механической остановке кровоточащих сосудов. Полный гемостаз при применении «HEMOBEN» отмечен в течение 90-210 сек., в среднем $175,0 \pm 23,3$ сек. Кровопотеря, вычисленная путем взвешивания марлевых шариков, составила не более 1,2 мл.

Повторное кровотечение после гемостаза в период наблюдения в течение 10 минут составил 15%. Как правило рецидив кровотечения наступал в тех случаях, когда рана покрывалась рыхлым гелеобразным тромбом.

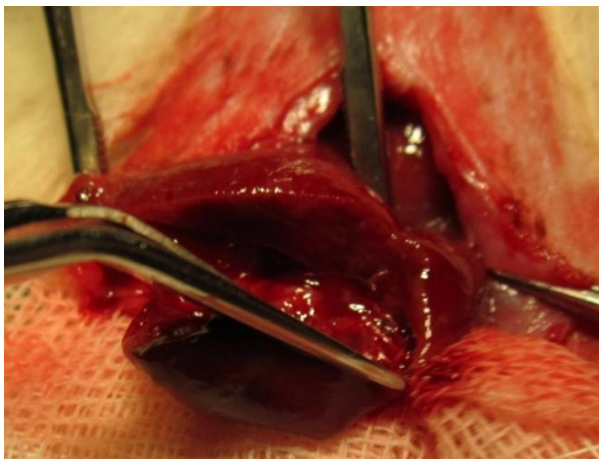


Рис. 1. Выполнение резекции печени у крысы



Рис. 2. Обильно кровоточащая поверхность резецированной части печени



Рис. 3. Нанесение гемостатического порошка на резецированную часть печени

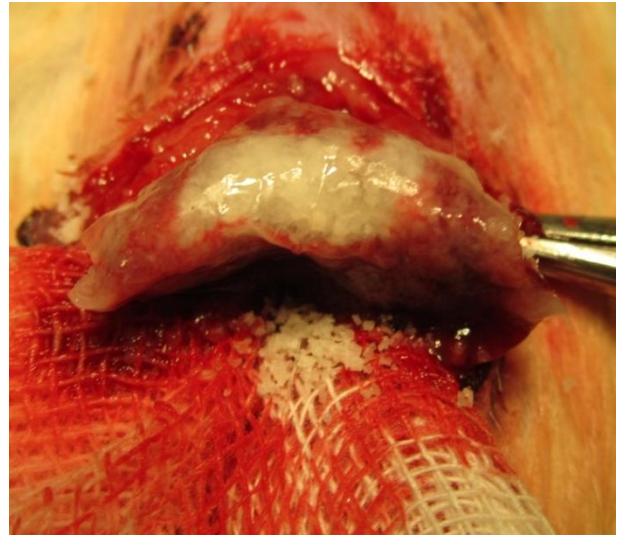


Рис. 4. Аппликация второго слоя гемостатической пленки на резецированную поверхность печени

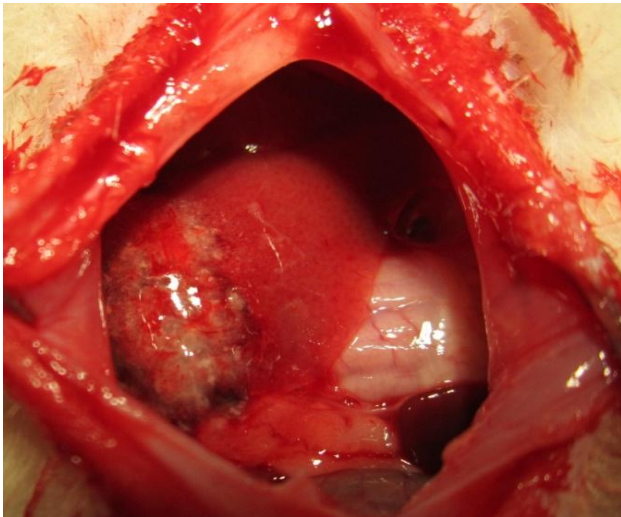


Рис. 5. Наблюдение в течение 10 минут, рецидива кровотечения нет



Рис. 6. 3 часа после гемостаза порошком «НЕМОВЕН»

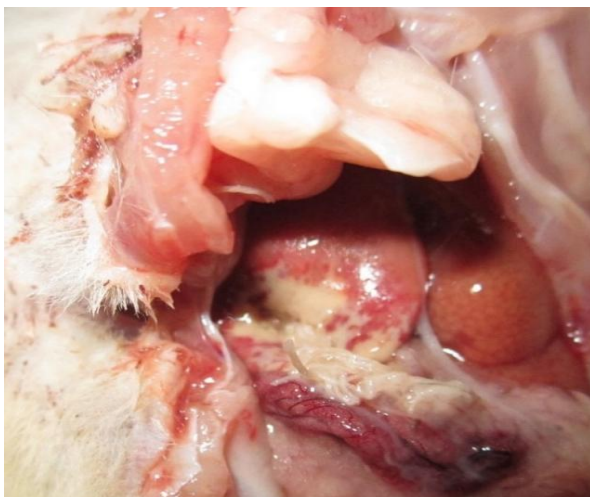


Рис. 7. Контроль 7 суток. Спаечный процесс в области гемостаза губкой

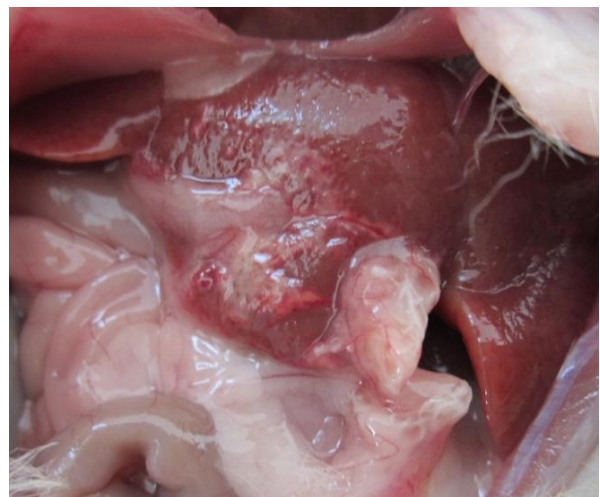


Рис. 8. Спаечный процесс через 14 суток после остановки кровотечения губкой



Рис. 9. Селезенка крысы, выведенная в операционную рану.

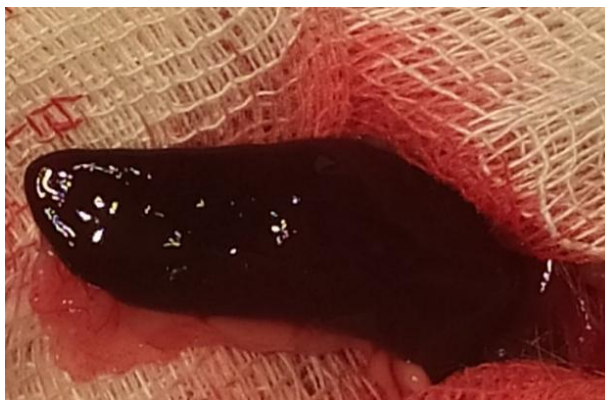


Рис. 10. Произведен продольный разрез паренхимы селезенки с использованием скальпеля с развитием активного паренхиматозного кровотечения



Рис. 11. Активное паренхиматозное кровотечение из раны селезенки с пропитыванием марлевого шарика (1) и салфетки

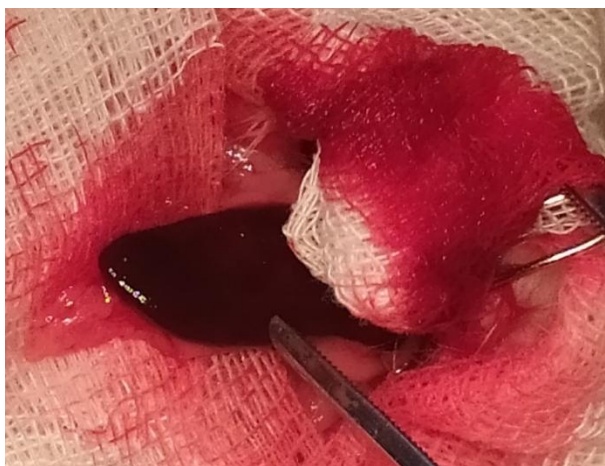


Рис. 12. Активное паренхиматозное кровотечение из раны селезенки с пропитыванием марлевого шарика (4) и салфетки

В группе животных, где применялась гемостатическая губка на 1-сутки после операции губка на поверхности печени представляла собой рыхлую массу, имбибированную кровью. В брюшной полости имелись признаки повторного эпизода кровотечения из раны печени. Имел место отек тканей и рыхлый спаечный процесс в области раны печени покрытой губкой.

Гистологически вокруг раны были кровоизлияния, некроз гепатоцитов, отек синусоидов, полнокровие сосудов. При макро- и микроскопической оценке на 3-, 7-, 14-е сутки в контрольной группе, имело место постепенного нарастания признаков воспаления, отмечалось образование плотного спаечного процесса (рис. 5-8). На 30-е сутки наблюдается процесс рассасывания соединительной ткани и формируется соединительно-тканная капсула вокруг остатков коллагенового покрытия.

Можно сделать вывод, что имплантат «НЕМОВЕН» вызывает на 1-е сутки морфологическую реакцию печени в виде воспаления и разрастания соединительной ткани, но эти процессы быстро стихают. На 7-14-е сутки наблюдается полное рассасывание имплантата. К 30-м суткам после имплантации наблюдаются регенераторные процессы в паренхиме печени, особенно в зоне повреждения, что свидетельствует о восстановлении ткани печени после применения «НЕМОВЕН». В контрольной группе в эти же сроки

наблюдалось нарастание признаков воспаления. На 14-е сутки губка не рассасывается, отмечался выраженный спаечный процесс и формирование гнойного абсцесса вокруг губки.

Повреждение селезенки моделируется у крыс путем нанесения раны скальпелем, при этом наносится линейная рана по наружной поверхности селезенки до капсулы внутреннего края селезенки на длину до 2 см.

Селезенка у крыс варьирует в зависимости от возраста и веса животных. Средний размер селезенки крысы весом 250-300 гр в длину составляет до 3 см., поэтому при длине разреза до 2 см достигается субтотальное рассечение паренхимы. При этом достигается активное смешанное кровотечение, которое не имеет тенденции к самостоятельной остановке (рис. 9-12).

После операции животные довольно долго просыпались. Активность животных вялая. На следующие сутки установлено, что из 4 оперированных особей летальный исход наступил у 2. При вскрытии брюшной полости отмечено наличие жидкой крови со сгустками, цвет внутренних органов анемичный. Выведение из эксперимента двух других крыс позволило установить наличие до 1 мл жидкой крови в брюшной полости, а также больших размеров гематомы в области раны селезенки.

Таким образом, предложенный способ отличается новизной и характеризуется достижением активного

кровотечения из селезенки у экспериментального животного, которое не имеет тенденцию к самостоятельной остановке и без гемостаза повторяющиеся кровопотери приводят к летальному исходу. Можно заключить, что созданная модель раны селезенки в адекватной степени моделирует небольшие раны селезенки у человека. Без применения гемостатических средств кровотечение имеет слабую тенденцию к остановке, а в послеоперационном периоде может возобновиться с летальным исходом.

Для оценки возможности остановки кровотечения из раны селезенки в условиях медикаментозной гипокоагуляции проведены эксперименты выполнены на половозрелых белых б/п крысах самцах весом 220-280г. Животные содержались по 4 особи в одной клетке и находились в условиях вивария и сбалансированного рациона питания. В опытной группе крыс (10), в воду добавляли таблетку аспирина 1г на 100 мл воды. Приблизительный расчет составлял 10мг на 200 гр веса животного в сутки. Через 7 дней после начала приема препарата проверяли время свертывания крови по Ли-Уайту путем забора крови из хвостовой вены. При условии удлинения ВСК на 50-70% начинали экспериментальные исследования.

Исследования на 5 беспородных белых крысах со средним весом 220 ± 5 г выполнены с использованием гемогубки отечественного производства. При моделировании повреждения селезенки в условиях общей анестезии активное кровотечение из селезенки останавливали путем прикладывания фрагментов гемогубки соответственно размеру повреждения селезенки. Обычно размером 0,7x2 см. Во время операции губка быстро пропитывалась кровью и в последствии теряла свои свойства. В связи с чем для полной остановки кровотечения потребовалось 3-х кратное применение фрагментов гемогубки. По мере достижения полного первичного гемостаза потеря крови составила до 2 мл. В течение 10 минутного наблюдения отмечено постепенное насыщение губки поступающей кровью.

Послеоперационная летальность в течение суток после операции составила 2 из 5 особей. Причиной летального исхода явилось продолжающееся кровотечение из раны селезенки. У остальных животных, которые были выведены из эксперимента на следующие сутки выявлено, что селезенка находится в массивном спаечном инфильтрате в виде рыхлых спайк. В боковых отделах живота имеются остатки крови. В области приложенной гемогубки имеются гематомы различной степени выраженности.

Применение гемогубки отечественного производства малоэффективно в остановке кровотечения из раны селезенки. Отмечен высокий риск рецидива кровотечения в послеоперационном периоде. Таким образом, применение гемостатической губки в изолированном варианте при гипокоагуляционном кровотечении не может быть рекомендовано в клинической практике.

Исследования в опытной группе проведено на 5 белых б/п крысах самцах со средним весом 230 ± 6 г. Условия эксперимента те же, что и в группе с гемогубкой. Верхне-срединная лапаротомия под общей анестезией. В рану выводилась селезенка и моделировалось повреждение с развитием смешанного активного кровотечения. Применение порошка «HEMOBEN» в условиях гипокоагуляционного кровотечения приводило к быст-

рому пропитыванию порошка кровью с формированием геля. Последующие поступления крови требовали повторного применения порошка «HEMOBEN». Полная остановка кровотечения достигалась после 3-4 кратного применения порошка «HEMOBEN» с формированием довольно рыхлого тромба. При наблюдении в течение 10 минут происходило постепенное насыщение и пропитывание кровью поверхностно расположенного сухого порошка «HEMOBEN». В последствии формировался тромб достаточно больших размеров, не достаточно плотный. Однако гемостаз достигался во всех случаях. Потеря крови составила приблизительно до 1-2 мл.

В послеоперационном периоде летальных исходов не было. При выведении из эксперимента через 1 сутки после операции определялся довольно массивный тромб в области раны селезенки с вовлечением сальника, окруженный рыхлыми спайками. Имелись следы крови в боковых отделах живота. Исследования позволили установить, что в условиях гипокоагуляционного кровотечения из моделированной раны селезенки применение гемостатического препарата «HEMOBEN» оказывает ощутимый гемостаз с формированием рыхлого тромба на поверхности раны. Однако расход препарата возрастает в 2-3 раза, а также тромб имеет тенденцию к росту в послеоперационном периоде. Таким образом несмотря на достаточную эффективность гемостатика «HEMOBEN» при травмах селезенки на фоне гипокоагуляции изолированное применение препарата может оказаться недостаточным в условиях клинических наблюдений.

Выводы. Предложенный экспериментальный способ моделирования повреждения селезенки характеризуется достижением активного кровотечения, которое не имеет тенденцию к самостоятельной остановке и без гемостаза повторяющаяся кровопотеря приводит к летальному исходу, что соответственно обеспечивает возможность проведения объективной оценки эффективности применения локальных имплантатов в отношении достижения первичного гемостаза и вероятности рецидивов кровотечения.

В условиях гипокоагуляционного кровотечения из моделированной раны селезенки применение гемостатического препарата «HEMOBEN» оказывает адекватный гемостаз с формированием рыхлого тромба на поверхности раны, однако изолированное применение препарата на фоне гипокоагуляции может оказаться недостаточным в условиях клинических наблюдений, так как вероятность рецидива кровотечения в эксперименте составила 20%.

Литература:

1. Горский В.А., Зрянин А.М., Агапов М.А. Эффективность применения тахокомба в гепатобилиарной хирургии. *Ж. Современные технологии в медицине.* 2011 г.; 2:61-68.
2. Качмазов А.А., Жернов А.А. Методы гемостаза и применение препаратов окисленной восстановленной целлюлозы при резекции почки. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2010 г.;4: 68-71.
3. Легонькова О.А., Винокурова Т.И. Хирургические шовные материалы: история и развитие (обзор). *Вестник Росздрава.* 2017; 3: 56-62.

4. Макаренко М.В., Курченко В.П., Усанов С.А. Современные подходы к разработке раневых покрытий. *Труды Белорусского государственного университета*. 2016;11(1): 273-279.
5. Маховский В.В. Состояние проблемы и пути оптимизации тактики органосохраняющих операций на селезенке. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2014; 17 (3): 42-55.
6. Солдатова Д.С. Автореферат диссертации к.м.н. Курск. 2021.
7. Arnaud F, Teranishi K, Tomori T, Carr W, McCarron R. Comparison of 10 hemostatic dressings in a groin puncture model in swine. *J Vasc Surg*. 2009;50(3):632-639. doi:10.1016/j.jvs.2009.06.010.
8. Baylis JR, Chan KYT, Kastrup CJ. Halting hemorrhage with self-propelling particles and local drug delivery. *Thromb Res*. 2016;141(Suppl 2):36-39. doi:10.1016/S0049-3848(16)30362-0.
9. Bennett B.L., Littlejohn L. Review of new topical hemostatic dressings for combat casualty care. *Mil. Med*. 2014;179:497-514. doi:10.7205/MILMED-D-13-00199.
10. Bochicchio G, Falus G. ClotFoam as an adjunct to hemostasis in abdominal surgery – liver bleeding is encountered. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02264730> Accessed 12 Mar 2019.
11. Briceño J., Naranjo A., Ciria R., Díaz-Nieto R., Sánchez-Hidalgo J.M., Luque A., Rufián S., López-Cillero P. A prospective study of the efficacy of clinical application of a new carrierbound fibrin sealant after liver resection. *Arch Surg*. 2010;145(5):482-486. doi:10.1001/archsurg.2010.62.
12. Chang JC, Holloway BC, Zamisch M, Hepburn MJ, Ling GS. ResQFoam for the treatment of non-compressible hemorrhage on the front line. *Mil Med*. 2015;180(9):932-933. doi:10.7205/MILMED-D-15-00049.
13. Cheng CM, Meyer-Masseti C, Kayser SR. A review of three stand-alone topical thrombins for surgical hemostasis. *Clin Ther*. 2009;31(1):32-41. doi:10.1016/j.clinthera.2009.01.005.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ИМПЛАНТАТА "НЕМОВЕН" НА МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ НА ФОНЕ ГИПОКОАГУЛЯЦИИ

Кадиоров М.Ж., Хаджиев Д.Ш.

Резюме. Проведены исследования эффективности нового отечественного гемостатического средства «НЕМОВЕН» в условиях гипокоагуляции. Эксперименты на животных показали быстрое достижение гемостаза при использовании порошка «НЕМОВЕН», его способность предотвращать повторное кровотечение и стимулировать регенерацию тканей. В сравнении с традиционными гемостатическими материалами, «НЕМОВЕН» демонстрирует преимущества в снижении кровопотери и уменьшении воспалительных осложнений.

Ключевые слова: гемостаз, гипокоагуляция, НЕМОВЕН, кровотечение.