

На правах рукописи

Лазаренко Сергей Викторович

**РАЗРАБОТКА И КОНЦЕПЦИЯ ПРИМЕНЕНИЯ
МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ
КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ
ПРИ ПАРЕНХИМАТОЗНОМ КРОВОТЕЧЕНИИ
(экспериментальное исследование)**

3.1.9. Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Воронеж – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Липатов Вячеслав Александрович**

Официальные оппоненты:

Дзидзава Илья Игоревич – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра госпитальной хирургии, начальник кафедры

Дыдыкин Сергей Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий кафедрой

Ярцев Петр Андреевич – доктор медицинских наук, профессор, государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», отдел неотложной хирургии, эндоскопии и интенсивной терапии, руководитель отдела

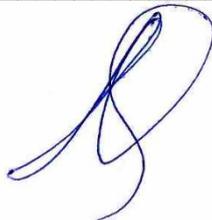
Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «22» сентября 2025 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.006.02 ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России по адресу: 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России и на сайте: <https://vrngmu.ru/>.

Автореферат разослан «_____» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Остроушко Антон Петрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Повреждения паренхиматозных органов занимают ведущее место среди всех травм органов брюшной полости, встречаясь в 25% случаев [Белобородов В. А. и соавт., 2010; Пархисенко Ю. А. и соавт. 2023]. Летальность при открытых повреждениях отмечается в 10% случаев, а при закрытых травмах – в 65% случаев. Причиной высокой летальности в основном служит тяжелая кровопотеря [Пархисенко Ю. А. и соавт., 2018; Умедов Х. А. и соавт., 2023].

Травмы печени продолжают оставаться в центре внимания специалистов хирургического профиля, что обусловлено трудностями их диагностики и тяжестью выполнения оперативного пособия, ведения пациентов в послеоперационном периоде [Дубровина И. А. и соавт., 2019; Turner J. M. et al., 2023].

Неудовлетворительные результаты лечения повреждений печени в первую очередь определяются ее анатомическими особенностями, сложностями диагностики, а также тем, что существующие традиционные методы остановки кровотечения не позволяют в полном объеме оказать эффективное гемостатическое пособие [Дубровина И. А. и соавт., 2019; Yazıcı N. et al., 2023].

В целом проблема остановки паренхиматозных кровотечений содержит много нерешенных вопросов, что побуждает к поиску современных и малотравматичных способов достижения эффективного и надежного гемостаза [Воронцов А. К. и соавт., 2020; Fontes C. E. R. et al., 2018].

Поскольку главной особенностью повреждений паренхиматозных органов является развитие длительно не останавливающегося кровотечения, основные усилия исследователей направлены на разработку новых эффективных методов борьбы с этим осложнением – модификацию классических гемостатических швов (по Оппелю, Замошину, Кузнецову-Пенскому, Овре, Телкову, Жордану и т.д.) и гемостатических имплантов [García I. C. et al., 2022; Роткин Е. А. и соавт., 2023; Сварич В. Г. и соавт., 2023].

Спектр средств местного действия разнообразен и представлен множеством видов губок, пленок, комбинированных имплантов на основе коллагена, желатина, окисленной целлюлозы, крахмала и пр. [Давыденко В. В. и соавт., 2015; Simpson A. et al., 2022]. Материал, из которого изготавливают местные гемостатические средства, может быть пропитан прокоагулянтами (тромбином, фибриногеном, фактором VIII, XIII и т.д.) или веществами, активирующими процессы свертывания крови (аминокапроновая и транексамовая кислоты), способствующими образованию фибриновых и смешанных тромбов в артериолах, венах и капиллярах [Pekrul I. et al., 2021;

Горский В. А. и соавт., 2023; Кабак В. А. и соавт., 2023].

При сравнительной оценке и выборе гемостатических материалов рассматривают их безопасность, эффективность, удобство в использовании, стоимость, доступность и другие параметры [Белозерская Г. Г. и соавт., 2019; Sun W. et al., 2021].

Приоритетным направлением исследований и разработок в медицине является создание новых биосовместимых и биodeградируемых изделий для хирургии. В этой связи представляют большой интерес гемостатические средства, для получения которых в качестве исходного сырья используют природные биополимеры, например, целлюлозу [Солдатова Д. С. и соавт., 2020; Wasupalli G. K. et al., 2018].

Таким образом, несмотря на интенсивное развитие хирургии, ряд вопросов хирургического лечения больных с травмой паренхиматозных органов остается нерешенным. Это и послужило поводом для разработки и проведения сравнительного изучения новых гемостатических имплантов, которые наиболее полно соответствовали бы требованиям, предъявляемым к местным гемостатическим средствам: обеспечение в минимальный срок полного прекращения капиллярного и паренхиматозного кровотечения; предотвращение возобновления кровотечения; отсутствие раздражающего действия на окружающие ткани; нетоксичность; отсутствие влияния на функцию гемостаза в общем кровотоке; высокая адгезивная и адсорбционная способности; способность к быстрому и эффективному формированию тромба; способность к биodeградации в условиях макроорганизма; противовоспалительная и антимикробная активность.

Степень проработанности темы исследования

В последние годы проблеме уделяли внимание многие исследователи [Бунатян А.Г. и соавт., 2003; Глухов А.А. и соавт., 2020; Тимербулатов В.М. и соавт., 2020; Андреев А.А. и соавт., 2021; Горский В.А. и соавт., 2023; Пархисенко Ю.А. и соавт., 2024; Белозерская Г.Г. и соавт., 2024; Чередников Е.Ф. и соавт., 2025]. Проводимые на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии и в лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета работы, посвященные использованию для целей остановки кровотечения различных материалов и средств, легли в основу настоящего исследования [Чижиков и соавт., 2018; Солдатова Д.С. и соавт., 2021; Бежин А.И. и соавт., 2023; Липатов В.А. и соавт., 2025; Северинов Д.А. и соавт., 2025]. Их работы в значительной мере способствовали изучению разных подходов к изучению кровотечений в условиях эксперимента на животных.

Предложенные для гемостатических целей методики включают различные формы имплантов: порошки, гели, губки, нетканые структуры, материалы с дополнительными свойствами и депонированными в них лекарственными препаратами. Тем не менее, проблема остановки паренхиматозного кровотечения существующими в арсенале хирурга инструментами и методиками остается актуальной.

Известно, что одним из главных компонентов пускового механизма процесса коагуляции является контакт крови с коллагеном и биологически активными компонентами поврежденных тканей. Внесение в структуру гемостатического средства коллагеновых молекул, обладающих высокой биологической инертностью, представляется перспективным решением в вопросе модификации пористых кондуитов на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ). Дополнение структуры изделий из этого инертного гидрофильного полимера аллогенным коллагеном морского происхождения позволит, не ухудшая биогенных свойств, добиться потенцирования коагуляции и оптимизации процесса заживления раны.

Цель исследования: разработать новые многокомпонентные губчатые полимерные кровоостанавливающие средства, провести их экспериментальную апробацию и предложить концепцию применения при паренхиматозном кровотечении.

Задачи исследования:

1. Актуализировать разрабатываемую тематику по использованию губчатых полимерных кровоостанавливающих средств в клинической практике с использованием метода экспертных оценок.
2. Предложить устройство для исследования физических характеристик швов и в опытах *ex vivo* изучить прочностные свойства паренхимы печени.
3. Разработать новые образцы губчатых полимерных кровоостанавливающих средств для применения при травмах паренхиматозных органов.
4. Изучить физические, структурные и химические свойства исследуемых образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств.
5. Оценить картину морфологических изменений при подкожном размещении исследуемых губчатых полимерных кровоостанавливающих средств.
6. Изучить влияние губчатых полимерных кровоостанавливающих средств на процесс образования сгустка крови *in vitro*.
7. Изучить влияние исследуемых губчатых полимерных кровоостанавливающих средств на время остановки кровотечения и объем

кровопотери в экспериментах *in vivo*.

8. Разработать способ моделирования ран печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов, и с помощью контрольно-динамической лапароскопии оценить выраженность макроскопических изменений в брюшной полости.

9. Изучить реакцию паренхимы печени и окружающих тканей на применение губчатых полимерных кровоостанавливающих средств.

10. Из разработанных образцов выбрать наиболее оптимальное губчатое полимерное кровоостанавливающее средство, применив метод ранговой оценки всех свойств.

Научная новизна исследования

Для оценки физических свойств гемостатических швов паренхиматозных органов брюшной полости и выбора менее травматичного вида шва предложено устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов (патент RU 184617 U1).

Представлен метод оценки влияния локально применяемых хирургических гемостатиков на скорость свертывания крови и формирование тромба *in vitro* путём добавления образцов в пробирку с кровью (патенты RU 2700165 C1, RU 2821761 C1).

Также разработан оригинальный подход к нанесению рвано-травматичных повреждений эндоскопическим инструментом, охватывающий полную рабочую поверхность устройства и полный размах браншей элементов, позволяющий исследовать гемостатические препараты в условиях, максимально приближенных к настоящим клиническим ситуациям (патент EA 042177 B1).

Впервые для целей остановки кровотечения предложено новый состав губчатого полимерного кровоостанавливающего средства комбинированного типа, где в качестве основы легла натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы с добавлением коллагена морского происхождения в различном массовом соотношении (патент RU 2836134 C1).

Доказано, что уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из области имплантации кровоостанавливающего средства коррелирует с показателем количества образовавшегося коллагена и выраженности фиброза в зоне травмы.

Установлено, что разработанные и предложенные к применению образцы губчатого полимерного кровоостанавливающего средства (ГПКС) не вызывают избыточного спайкообразования и фиброзирующих изменений в печени по результатам контрольно-динамической лапароскопии.

Показано, что образцы опытных групп обладают большей площадью пор, чем в группах контроля и сравнения, что усиливает их гемостатическую активность за счет большей поверхности контакта жидкой части крови и твердого фрагмента губки.

Теоретическая и практическая значимость работы

Использование коллагена морского происхождения в качестве компонента местных кровоостанавливающих средств позволит в дальнейшем разрабатывать и получать новые биологически инертные, эффективные и безопасные медицинские изделия, в том числе для их использования при травмах и оперативных вмешательствах на печени и других паренхиматозных органах и тканях.

Теоретическая основа и практические аспекты местного применения средств остановки кровотечения, как технологии интраоперационного гемостаза, будут востребованы при реализации учебного и научного процесса на кафедрах хирургического профиля, в экспериментальных научных лабораториях.

Определение уровня гидроксипролина в тканях может быть использовано в дальнейших исследованиях для определения степени развития соединительной ткани в области размещения хирургических материалов в подкожной клетчатке при тестировании медицинских изделий.

Применение новых разработанных в данном исследовании местных гемостатических средств позволит эффективно бороться с паренхиматозным кровотечением, снизить количество осложнений. Результаты работы открывают перспективу клинического применения этих средств, организации производства, применения при хирургическом лечении травм печени и других паренхиматозных органов, в том числе с применением бесшовных технологий.

Предложенные модели травмы печени, в том числе ее «рваной раны», являются перспективными для разработки и апробации новых методов гемостаза в хирургии.

Примененные в работе алгоритм тестирования и система интегрального изучения новых образцов ГПКС могут применяться в исследовательских целях для сравнительного изучения гемостатической активности, поскольку являются объективными инструментами оценки их эффективности.

Методология и методы диссертационного исследования

Диссертационная работа выполнена в соответствии с основными методологическими принципами и правилами доказательной медицины. Используются экспериментальные, морфологические, лабораторные методы исследования, проведена статистическая обработка данных.

На первом этапе исследования проведен сбор экспертного мнения относительно применения гемостатических аппликационных материалов в клинической практике.

На втором этапе в эксперименте *ex vivo* на 30 участках правой доли печени трупов лиц мужского пола, умерших в возрасте 35-40 лет, без признаков патологических изменений в органе и хронических заболеваний в анамнезе, с момента смерти которых прошло не более суток, тензометрически изучали физико-механические свойства швов и шовного материала, отличающегося текстурой (монофиламентный, полифиламентный крученный, полифиламентный плетеный).

На третьем этапе в эксперименте *in vitro* изучали физические и химические свойства губчатых кровоостанавливающих полимерных средств: степень остаточной деформации (210 тестов), гидроскопичность (70 тестов), пористость (70 тестов), адгезивность (70 тестов), pH (70 тестов). Помимо этого, на данном этапе изучили структурные свойства образцов методами световой и электронной сканирующей микроскопией. Измеряли площадь пор и толщину волокон (по 70 измерений каждого параметра). Завершающим исследованием на третьем этапе стало изучение времени свертывания донорской крови в присутствии образцов кровоостанавливающих губчатых средств. Выполнено 160 коагулологических тестов.

На четвертом этапе в остром опыте *in vivo* на крысах-самцах линии Вистар выполняли краевую тангенциальную резекцию печени и на сформировавшийся дефект имплантировали исследуемые образцы кровоостанавливающих средств. При этом оценивали время кровотечения и объем кровопотери. Выполнено 70 тестов.

На пятом этапе изучали динамику биodeградации образцов и реакцию тканей на размещение образцов кровоостанавливающих средств *in vivo* (на крысах-самцах линии Вистар) морфометрическим (клеточный состав капсулы и соотношение элементов, толщина волокнистого слоя) и биохимическим (определение концентрации гидроксипролина в соединительнотканной капсуле) методами на 7-е, 14-е и 28-е сутки после вмешательства (выполнено 210 манипуляций).

На шестом этапе изучали возможные проявления кровотечения и воспаления после применения образцов кровоостанавливающих средств на животных моделях (кролики породы Советская шиншилла) с использованием лабораторных тестов (общий и биохимический анализ крови на 1-е и 28-е сутки) (100 комплектов), проведения контрольно-динамической лапароскопии на 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки (200 манипуляций). Также на 28-е сутки было выполнено

выведение животных из эксперимента с последующей аутопсией области имплантации образцов с оценкой выраженности спаечного процесса брюшной полости, морфологическим исследованием гистологических срезов (300 препаратов).

В последующем выполнялся статистический анализ полученных результатов в исследуемых группах.

Достоверность и обоснование результатов

С целью статистической обработки данных использован пакет программ Statistica 13 (производитель Dell Software Company, Round Rock, Texas, USA); GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software, San Diego, California). В качестве порогового значения принят уровень статистической значимости $p \leq 0,05$. Степень достоверности полученных в ходе исследования результатов подтверждается достаточным объемом выборки, полным набором исследуемых параметров, охватывающие критические показатели технологии, оперированием современными лабораторно-инструментальными методами исследования изделий медицинского назначения и биологических объектов. Используемые в диссертации методики, рассмотрены и одобрены на заседании РЭК при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 16 ноября 2020 года и № 1 от 15 января 2024 года). Построенный план диссертации, методология изучения основных параметров объекта исследования, сроки и способы выведения животных из эксперимента, а также статистическая обработка полученных результатов соответствуют основным требованиям и принципам доказательной медицины, позволяют решить поставленные задачи исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанное «Устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов» позволяет изучать динамику усиления и натяжения нити, оценить риск прорезывания печени при фиксации шва узлом.

2. Коллаген морского происхождения, входящий в структуру разработанного кровоостанавливающего губчатого средства, улучшает его физические и манипуляционные свойства (эластичность, гибкость, адгезивность).

3. Введение коллагена в состав изделия усиливает его коагуляционную (время свертывания крови ускоряется в 2,3-4,3 раза) и кровоостанавливающую активность (снижается объем кровопотери на 5,5%-8,8% и уменьшается время кровотечения на 50%-75%).

4. Толщина капсулы ($p < 0,05$) вокруг исследуемых образцов и значение клеточного индекса ($p < 0,05$) в зоне размещения кровоостанавливающего средства увеличиваются пропорционально концентрации коллагена в составе изделия.

5. Уровень гидроксипролина в водном экстракте соединительной ткани, формирующейся в зоне применения кровоостанавливающего средства, коррелирует с морфометрическими показателями выраженности фиброза (с толщиной волокнистого слоя капсулы ($r = 0,49$; $p < 0,05$) и с величиной клеточного индекса ($r = 0,39$; $p < 0,05$).

6. Na-КМЦ в качестве биоинертной гидрофильной основы в комбинации с коллагеном морского происхождения улучшает кровоостанавливающие свойства (время свертывания сокращается в 2,3-4,3 раза ($p < 0,05$)) и снижает выраженность реакции тканей (по значению клеточного индекса и толщины волокнистого слоя капсулы).

7. Использование разработанных с гемостатической целью губчатых полимерных кровоостанавливающих средств на основе Na-КМЦ, содержащих коллаген морского происхождения, позволяет получить гемостатический эффект, при этом реакция паренхимы печени и выраженность спаечного процесса (вид сращений, его распространенность, степень деформации органов) сопоставимы с таковыми при использовании применяемых в практической хирургии аналогов.

8. 25% содержание коллагена в структуре кровоостанавливающего средства на основе Na-КМЦ обладает оптимальными физическими (остаточная деформация образцов), структурными (толщина волокон и полная пористость) и кровоостанавливающими (время свертывания, объем кровопотери и время кровотечения) свойствами, вызывает минимальные изменения в зоне размещения в виде фиброза (толщина волокнистого слоя капсулы и уровень гидроксипролина).

Личный вклад автора

Диссертация была самостоятельно выполнена автором, чей личный вклад заключается в активном участии на каждом этапе исследовательского процесса: от проектирования эксперимента до подготовки научных статей. Автор участвовал в работе с образцами для изучения их физико-химических характеристик *in vitro*, проводил эксперименты по влиянию различных средств на процесс коагуляции крови, осуществлял моделирование повреждения печени у лабораторных животных (*in vivo*). Им были выполнены первичный сбор и предварительная обработка полученных данных, проведена последующий

статистический анализ результатов, завершившиеся оформлением итоговых материалов исследований.

Внедрение результатов научных исследований

Выполненное исследование подтверждает рациональность использования коллагена морского происхождения для изготовления медицинских изделий: материалы работы использованы ООО «АС РС» (г. Калининград). Результаты диссертационного исследования внедрены в научную деятельность НИИ экспериментальной медицины, учебный процесс кафедр хирургического профиля федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной центр охраны материнства и детства». Автор исследования является членом авторского коллектива монографии «Гемостаз в хирургии» (главы № 9-10, 2023 г.).

Апробация результатов работы

Апробация диссертации прошла на объединенном заседании нескольких кафедр Курского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации: кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии им. А.Д. Мясникова, кафедр хирургических болезней №1 и №2, кафедры хирургических болезней Института непрерывного образования, кафедры общей хирургии, а также лабораторий НИИ экспериментальной медицины. Обсуждение состоялось в рамках заседания, зафиксированного протоколом № 12 от 29 апреля 2025 года.

Основные результаты диссертационного исследования доложены мероприятиях всероссийского и международного уровней: 85-я Международная научно-практическая конференция «Университетская наука: взгляд в будущее» (7 февраля 2020 г., Курский государственный медицинский университет, г. Курск); 85-я Международная научно-практическая конференция «Молодежная наука и современность» (23-24 апреля 2020 г., Курский государственный медицинский университет, г. Курск), Международная научно-практическая конференция «Медицинская наука в эру цифровой трансформации» (10 декабря

2021 г., Курский государственный медицинский университет, г. Курск), Международная научно-практическая конференция «Хирургические импланты и изделия медицинского назначения» (20 июня 2023 г., Курский государственный медицинский университет, Курск), Международная научно-практическая конференция «Эксперимент в хирургии и онкологии» (22 сентября 2023 г., Курский государственный медицинский университет, г. Курск), III Всероссийская конференция молодых ученых «Современные тренды в хирургии» (29-30 марта 2024 г., Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва), LXXXV научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины - 2024» (1-28 апреля 2024 года, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург), Всероссийская конференция с международным участием «Новые возможности и перспективы в хирургической гастроэнтерологии» (5-6 декабря 2024 года, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, г. Москва).

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует требованиям специальности 3.1.9. Хирургия. Оно ориентировано на выполнение экспериментальных и клинических разработок новых подходов к лечению хирургической патологии с последующим внедрением эффективных методик в практическое здравоохранение согласно пункту 4 паспорта специальности.

Публикации

По материалам исследования опубликовано 26 научных работ, из них 11 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в том числе 6 публикаций, входящих в наукометрическую базу Scopus; получено 4 патента РФ на изобретение, в том числе 1 патент Евразийского уровня, а также 1 патент на полезную модель.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 265 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, восьми глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы. Библиографический список содержит 246 источников, из них 107 – отечественные публикации, 139 – иностранная литература. Работа иллюстрирована таблицами (36) и рисунками (126).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы. Изготовление опытных образцов ГПКС проводили методом сублимационной сушки растворов полимеров: после тщательного перемешивания разливали в формы толщиной слоя 15 мм, замораживали при -60°C и подвергали лиофилизации (камерная лиофильная сушилка Scientz 30F, КНР). Разработанные образцы ГПКС представляли собой высушенную в условиях вакуума смесь геля натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и коллагена в нескольких соотношениях: с концентрацией коллагена по массе 15, 25 и 50% (таблица 1, группы № 1-3). Группу контроля составили 4% гель Na-КМЦ (таблица 1, группа № 4) и ГКГ на основе бычьего коллагена (таблица 1, группа № 5). В группу сравнения вошли средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar (таблица 1, группа № 6) и пластина кровоостанавливающая «Тахокомб» (таблица 1, группа № 7).

Таблица 1 – Характеристика исследуемых материалов

Название	Производитель	Группа	Состав
Опытные образцы ГПКС: Na-КМЦ + коллаген	Лаборатория ЛЭХиО и ИЛИМИ НИИ ЭМ КГМУ	1	4% гель Na-КМЦ, 15% коллагена
		2	4% гель Na-КМЦ, 25% коллагена
		3	4% гель Na-КМЦ, 50% коллагена
		4	4% гель Na-КМЦ
Губка гемостатическая коллагеновая (ГКГ)	ООО «Лужский завод «Белкозин»», Россия	5	На 1 г: коллаген – раствор 2% – 49 г (0,98 г сухого коллагена), нитрофурацилин (фурацилин) – 0,0075 г, борная кислота – 0,0125 г.
Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	JOHNSON & JOHNSON, США	6	7-слойный гемостатический материал на нетканой основе оксидированной и регенерированной целлюлозы
Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	TAKEDA, Австрия	7	Коллагеновая губка, с содержанием в 1 см^2 активных веществ: фибриноген 5,5 мг; тромбин 2 МЕ; альбумин 2,9 мг; L-аргинина гидрохлорид 2,8 мг; коллаген 2,1 мг; натрия хлорид 1,5 мг; натрия цитрат 0,4 мг; рибофлавин 18,2 мкг

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

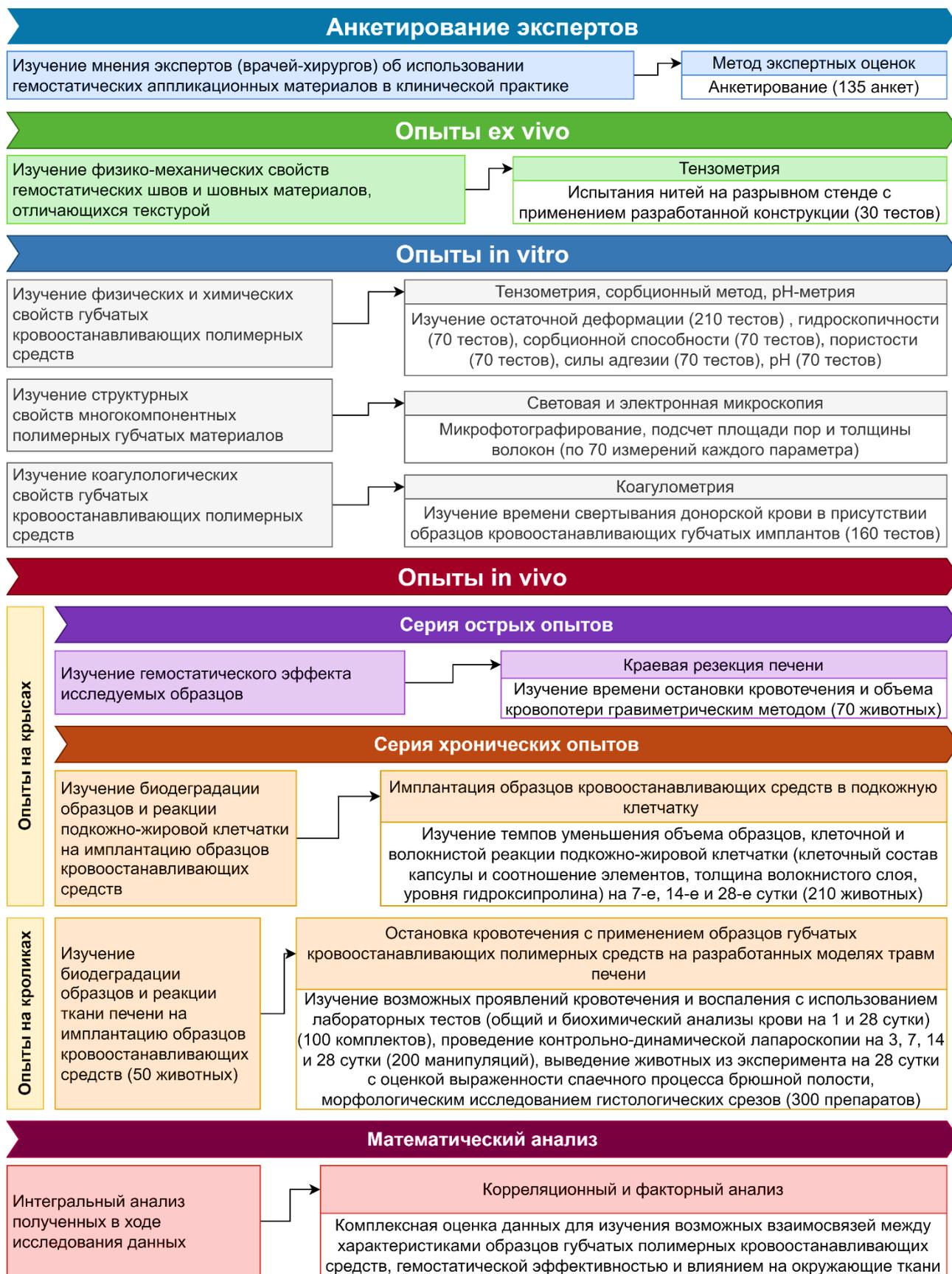


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Опрос экспертов об использовании местных гемостатических материалов проводили путем анкетирования 135 практикующих врачей-хирургов, оперирующих на органах брюшной полости.

Изучение физических характеристик гемостатических швов при операциях на печени выполняли на диафрагмальной поверхности правой доли печени трупов лиц мужского пола, умерших в возрасте 35-40 лет, без признаков патологических изменений в органе и хронических заболеваний в анамнезе, с момента смерти которых прошло не более суток. Исследования проводили на базе ОБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы» города Курск. Для проведения опыта отделяли участок паренхимы органа размерами 7,5x7,0x4,0 см. Следующим этапом на выделенном участке наносили рану, длина которой составляла 3,0 см, глубина 2,0 см. Рану ушивали простым узловым швом, который не затягивали, а накладывали один простой полуузел.

Для лигирования использовали отрезки шовного материала длиной 50 см (3/0 по USP): монофиламентные (Кетгут), крученые (Капрон крученый) и плетеные полигликолидные (ПГА).

Для контроля динамики усилия и натяжения нити использовали тензометрический метод с применением разрывного испытательного стенда и устройства собственной конструкции (патент RU 184617 U1). Измеряли F_{\max} (максимальное усилие до прорезывания паренхимы органа и/или разрыва шовного материала), при котором произошло прорезывание паренхимы органа в процессе использования монофиламентного шовного материала, и среднюю степень вытяжения нити (L_u). Рассчитывали коэффициент прорезывания ($K_{\text{пр}}$), равный отношению F_{\max} к L_u (при повреждении паренхимы $K_{\text{пр}} \geq 1$).

Тензометрию применяли также для изучения эластичности образцов и силы адгезии поверхности гемостатика к брюшине. Исследовались сорбционная способность, коэффициент полной пористости. Изучение химических свойств проводили по ГОСТу (12523-77) посредством измерения водородного показателя (pH) растворов – кислотности.

Структурные особенности образцов изучали посредством световой и растровой микроскопии на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) Quanta 650 FEG. Компоненты структуры измеряли с помощью триал-версии программы ImageTool 3.0.

Оценку влияния тестируемых образцов на образование сгустка крови проводили, исследуя время свертывания крови доноров-добровольцев с их добровольного информированного согласия, используя собственный коагулометрический тест с модификацией (патент RU 2700165 C1, патент RU 2821761 C1). Суть методики заключалась в следующем: предварительно

стабилизированную цитратом натрия донорскую кровь помещали в отдельную пробирку, куда добавляли 0,1 мл раствора тромбопластина и 0,1 мл 5%-го раствора хлорида кальция. Затем подготовленную таким образом кровь переносили в измерительную ячейку коагулометра, добавляя туда цилиндрические образцы хирургического материала диаметром 0,5 см и высотой 0,2 см. Далее фиксировалось время свертывания крови (проведено 160 экспериментов).

Гемостатическую эффективность образцов в остром эксперименте *in vivo* исследовали методами определения объема кровопотери, времени кровотечения на моделях травмы печени у крыс. В лапаротомную рану выводили левую долю печени, которую подвергали краевой тангенциальной резекции (иссекали область размерами 10x5x5 мм). Объем кровопотери определяли с помощью высокоточных аналитических весов. Для этого рассчитывали разницу между массой ГПКС до его применения на кровоточащей поверхности и после его использования, когда кровотечение прекратилось. Время кровотечения фиксировали визуально, отсоединяя материал от раны каждые 10 с. вплоть до полного гемостаза.

Реакцию организма животных на ГПКС изучали путем их подкожного размещения с формированием карманов по обе стороны от срединной линии спины и последующей микроскопией гистологических срезов (420 препаратов). Животных (крысы линии Вистар, 210 особей) из эксперимента выводили через 1, 2 и 4 недели после проведенного вмешательства. Была выполнена аутопсия с выделением соединительнотканной капсулы, сформировавшейся вокруг образца в каждом случае с целью определения в ней концентрации гидроксипролина, а также для анализа реакции тканей лабораторного животного на размещение средства с расчетом основных морфометрических параметров, таких как клеточный индекс и толщина волокнистого слоя капсулы вокруг гемостатика, темпов биodeградации материала (по 10 измерений каждого параметра).

Все исследования с использованием животных проводили в соответствии с международными и отечественными нормами гуманных практик выполнения экспериментов с участием мелких лабораторными животными под контролем РЭК при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол №3 от 16 ноября 2020 г.).

Моделирование повреждения печени с целью исследования реакции тканей на применение новых образцов гемостатических материалов в хроническом эксперименте *in vivo*. Из лапароскопического доступа кроликам формировали повреждения печени трех видов (рисунок 2): тангенциальную резекцию правой доли, отступив 5 см от ее края (рисунок 2 А), полость путем

диссекции браншами зажима в толще средней доли (рисунок 2 Б) и поверхностную рану левой доли печени размером 1x1 см (рисунок 2 В) (патент ЕА 042177 В1). После формирования дефектов в них помещали образцы изучаемых ГПКС одинакового размера.

С целью сравнительного изучения эффективности остановки кровотечения, реакции паренхимы печени и окружающих тканей на данном этапе работы, для гемостаза использовали только образцы, содержащие коллаген (разработанные материалы, ГКГ и пластину кровоостанавливающую «Тахокомб»).

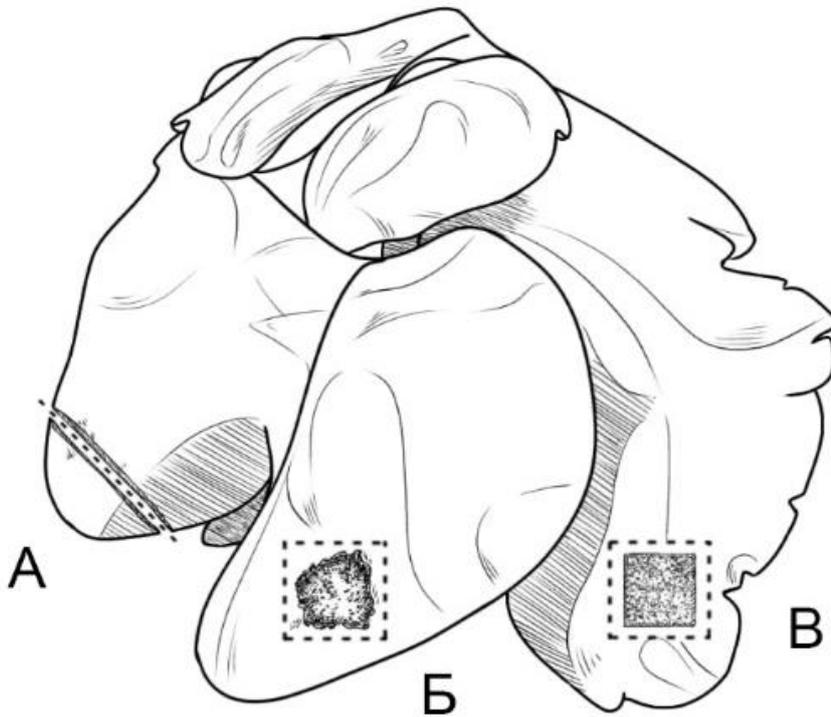


Рисунок 2 – Схема размещения тестируемых ГПКС в области моделирования травмы печени: после выполнения тангенциальной резекции правой доли (А), «кармана» в толще средней доли (Б) и на поверхности ее левой доли (В)

Методы лабораторных и инструментальных исследований. Накануне введения в эксперимент и в день выведения из него (через 4 недели после операции) проводился забор крови путем пункции наружной яремной вены каждого испытуемого животного в соответствии с разработанной методикой (патент RU 2742858 С1). Далее производился общий клинический анализ крови, включающий в себя определение ключевых интересующих показателей: количество эритроцитов, уровень гемоглобина, показатель гематокрита, число тромбоцитов и концентрация лейкоцитов. Метод реализован с помощью специализированного гематологического анализатора RT-7600S, предназначенного для ветеринарных целей.

Помимо этого, с помощью биохимического анализатора ACCENT 200 оценивали биохимические показатели на начальном и конечном этапах эксперимента. Определяли в динамике такие показатели, как: АЛТ, АСТ, содержание билирубина и щелочной фосфатазы.

На 3-и, 7-е, 14-е, 28-е сутки каждому животному выполняли контрольную диагностическую лапароскопию (всего 200 манипуляций), при этом оценивали реакцию брюшины на размещение образцов, наличие, количество и характер выпота, локальные признаки проявления патологических процессов, в частности выраженность спаечного процесса брюшной полости в баллах от 0 до 5 с оценкой морфологической организации спаек, распространенности процесса и деформации органов. Из эксперимента животных выводили на 28 сутки. Для последующего гистологического исследования забирали аутопсийный материал.

Статистическая значимость различий медиан в несвязанных выборках проверялась следующим образом: при нормальном распределении использовали критерий Ньюмана-Кейлса, при отклонениях от нормы распределение сравнивали с помощью критериев Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса (при многостороннем сравнении).

Для определения возможных взаимосвязей между признаками использовали корреляционный анализ исследуемых показателей по методу Спирмена. Интенсивность корреляций оценивалась по классификации Чеддока: связь считалась очень слабой при коэффициенте менее 0,5 и очень сильной при значении свыше 0,7. Комплексное влияние множества факторов на гемостатические свойства и гистологическую совместимость используемых образцов было проанализировано посредством факторного анализа.

При выполнении статистической обработки данных считали допустимой для экспериментальных медико-биологических исследований величину ошибки 5% (уровень $p < 0,05$). В качестве программной среды использовали лицензионную версию программы Statistica 13,0 (производитель Dell Software Company, Round Rock, Texas, USA) (лицензия ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России); GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software, San Diego, California) (триал версия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Консолидированное мнение экспертов (врачей-хирургов) заключалось в следующем: губчатое полимерное кровоостанавливающее средство должно надежно останавливать кровотечение, обладать антибактериальной активностью, апирогенностью, высокой адгезивной способностью, биodeградировать в течение 5-10 суток, останавливать кровотечение в течение 2-

3 минут, гарантировать невозможность рецидива. Согласно полученным данным о физических свойствах шовного материала в эксперименте при операциях на печени, можно судить о том, что среднее максимальное усилие до прорезывания паренхимы органа и/или разрыва шовного материала (F_{max}), при котором произошло прорезывание паренхимы органа в процессе использования монофиламентного шовного материала, составило 65,20 Н, при средней степени вытяжения нити (Lu) 54,31 мм, которые являются наименьшими значениями среди трех групп (таблица 2). Полученные результаты позволяют утверждать, что наименее предпочтительным шовным материалом при операциях на печени является мононить. Результат эксперимента лишний раз продемонстрировал очевидно необходимый переход к «бесшовным» методикам остановки кровотечения в связи с невозможностью избежать травмы паренхимы и локальной ишемии при наложении швов, то есть использованию кровоостанавливающих швов при остановке кровотечения в сочетании с ГПКС как в качестве амортизатора при затягивании узла (во избежание дополнительной травмы паренхимы органа), так и агента, потенцирующего местный гемостаз.

Таблица 2 – Показатели F_{max} (Н) и Lu (мм) исследуемых групп

	Показатели описательной статистики	Монофиламентный шовный материал	Крученный шовный материал	Плетеный шовный материал
F_{max} (Н)	Me [Q25%;Q75%]	65,21 [65,18; 65,31]	81,24 [81,22; 89,93]	78,02 [78,0; 79,56]
	p	***p3<0,05	**p2≥0,05	*p1<0,05
Lu (мм)	Me [Q25%;Q75%]	54,41 [54,4; 54,43]	72,54 [71,11; 74,26]	63,77 [63,36; 64,83]
	p	***p3<0,05	**p2≥0,05	*p1<0,05

Примечания: *p1 – достоверность отличия средних значений образцов, ушитых плетеным шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым монофиламентными нитями. **p2 – достоверность отличия средних значений образцов, ушитых крученым шовным материалом по отношению к образцам, ушитым плетеными хирургическими нитями. ***p3 – достоверность отличия средних значений образцов, выполненных монофиламентным шовным материалом по отношению к образцам, ушитым кручеными нитями.

Результаты сравнительного изучения физических и химических свойств образцов ГПКС. По результатам тензометрии через 5 минут после прекращения воздействия на объекты наименьшей остаточной деформацией обладает средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar (13,26%): в 3,92 раза ниже, чем в группе № 1, в 3,88 раза ниже, чем в группе № 2, в 3,03 раза меньше, чем в группе № 3, в 1,98 раз ниже, чем в группе № 4, в 2,29 раз ниже, чем в группе № 5, в 3,3 раза ниже, чем в группе № 7. Такая низкая степень остаточной деформации говорит о выраженной упругости образца. В опытной группе наибольшей остаточной деформацией обладают комбинированные образцы с 15% содержанием коллагена (52,28%). Это свидетельствует о низкой упругости образцов и может негативно повлиять на результативность применения данного средства при выполнении оперативного вмешательства (рисунок 3).

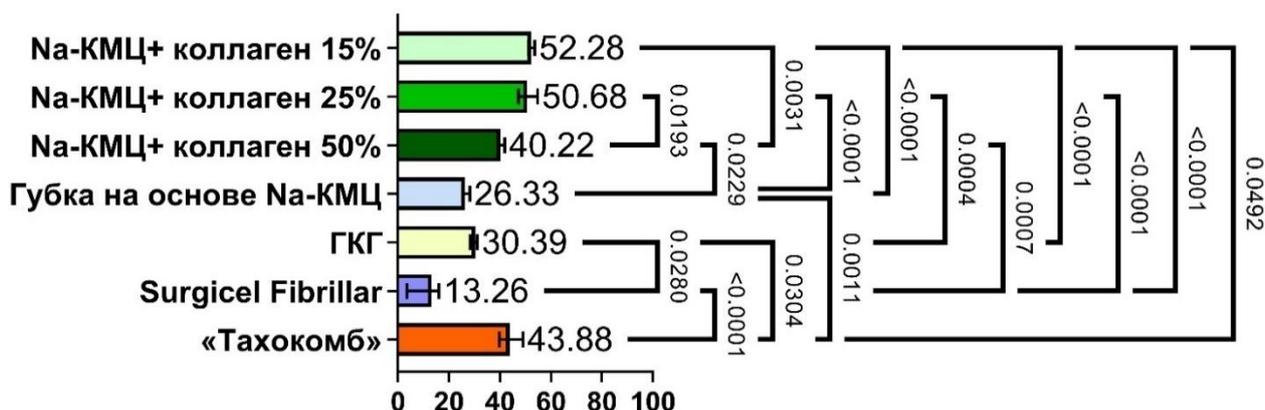


Рисунок 3 – Остаточная деформация образцов через 5 минут после сжатия на 50%

При оценке остаточной деформации сжатия через 10 минут после прекращения компрессии наименьший результат также демонстрирует группа № 6, показатель которой зафиксирован на уровне 12,09%. Данный показатель ниже, чем в группе № 1 в 3,37 раза, в 3,91 раза ниже, чем в группе № 2, в 2,42 раза ниже, чем в группе № 3, в 1,09 раза ниже, чем в группе № 4, в 1,05 раза ниже, чем в группе № 5 и в 3,5 раза ниже, чем в группе № 7. В опытной группе наибольшим результатом остаточной деформации обладает образец с 25% концентрацией коллагена в составе комбинированного средства (рисунок 4).

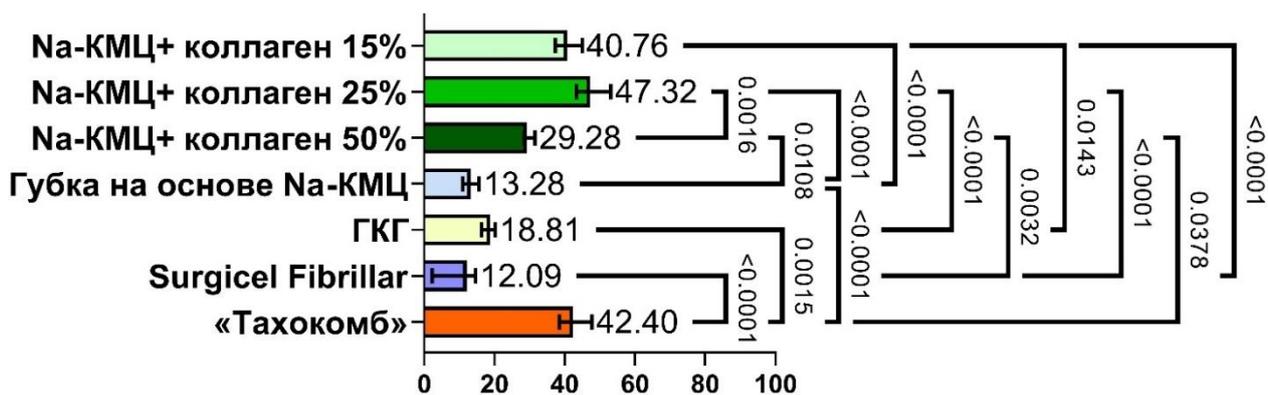


Рисунок 4 – Остаточная деформация образцов через 10 минут после сжатия на 50%

Изучение остаточной деформации сжатия (ОДС) на 30 минуте после прекращения воздействия на объект показало, что наименьшая деформация характерна также для образца № 6. Данная группа продемонстрировала результат в 3,4 раза меньше, чем в группе № 1, в 4,2 раза меньше, чем в группе № 2, в 2,67 раз меньше, чем в группе № 3, в 1,18 раз меньше, чем в группе № 4, в 1,22 раза меньше, чем в группе № 5 и в 3,79 раза меньше, чем в группе № 7. Среди опытных групп наибольшей ОДС обладает группа № 2 с содержанием коллагена 25% (ОДС = 43,82%).

Изменения толщины образцов во времени после сжатия на 50% позволяют сделать вывод, что механические характеристики испытываемых образцов определяются не только их химическим составом, но и особенностями пространственной структуры пористой системы, характеризующей соотношение вещества и сформировавшихся пор. ГПКС группы № 6 (Surgicel Fibrillar) обладают высокой плотностью волокон и меньшим размером пор, что обуславливает низкий уровень остаточной деформации. В то же время низкие показатели ОДС косвенно говорят о высокой пористости образцов, что может обеспечить высокие адгезивные и сорбционные свойства.

В результате оценки гидроскопичности было установлено, что наибольшей сорбционной способностью обладают образцы группы № 5 (коллагеновая губка). Коэффициент в данной группе выше в 3,15 раз в сравнении с группой № 1, в 1,92 раза выше, чем в группе № 2, в 1,26 раз выше, чем в группе № 3, в 2,82 раз выше, чем в группе № 4, в 2,37 раз выше, чем в группе № 5 и в 1,4 раза выше, чем в группе № 7. Среди опытных групп наилучшей сорбционной способностью обладают образцы группы № 3 (Na-КМЦ+ коллаген 50%) (1,61).

Сравнения величины показателя полной пористости изученных в эксперименте образцов ГПКС и значимость статистических отличий между

экспериментальными группами свидетельствуют о существенных отличиях полной пористости разработанных коллагеновых кровоостанавливающих средств и образцов контрольных групп и групп сравнения.

При увеличении концентрации коллагена в образце увеличилась и его полная пористость, разница между образцами с 15% содержанием коллагена (104 мл/см³ [91,51; 110,8]) и с 25% содержанием (153,6 мл/см³ [91,51; 110,8]) составила 47,69%. При увеличении концентрации коллагена в образце его полная пористость между образцами с 25% содержанием коллагена (153,6 мл/см³ [91,51; 110,8]) и с 50% содержанием (275,1 мл/см³ [256; 399,3]) увеличилась на 79,1% (рисунок 5).

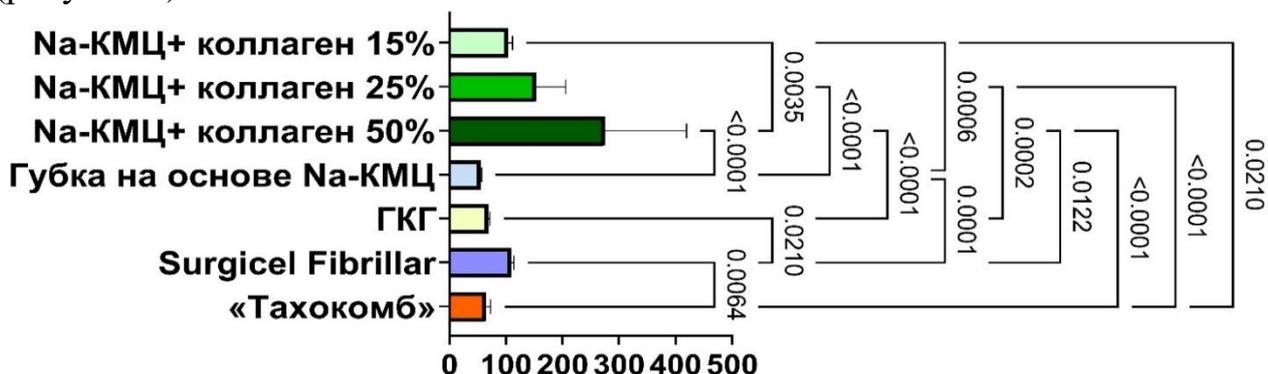


Рисунок 5 – Показатель полной пористости изученных в эксперименте образцов ГПКС, мл/см³

Наибольшей силой адгезии обладают образцы группы № 1 (Na-KMЦ+ коллаген 15%) (2,705 Н). Показатель в данной группе в 2,8 раза превалирует над группой № 2 (Na-KMЦ+ коллаген 25%), в 1,9 раза больше, чем в группе № 3 (Na-KMЦ+ коллаген 50%), в 3,7 раза выше, чем в группе № 4 (губка на основе Na-KMЦ), в 4,83 раза выше, чем в группе № 5 (ГКГ), в 10,8 раза выше, чем в группе № 6 (Surgicel Fibrillar) и в 5,1 раза выше, чем в группе № 7 («Тахокомб»). Статистически значимые отличия были выявлены между группами № 1 и № 2-7, между группой № 2 и № 3-7, между группой № 3 и № 4-7 (рисунок 6).

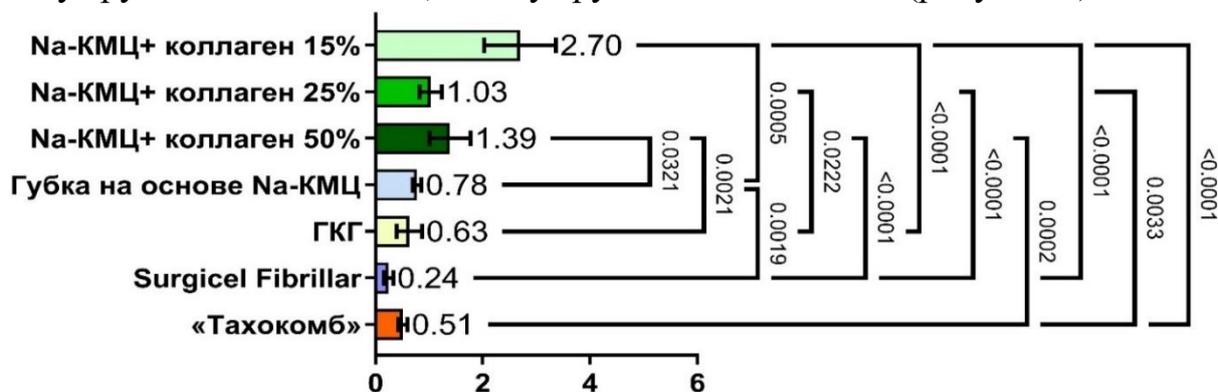


Рисунок 6 – Показатель силы адгезии изученных образцов ГПКС, Н

При изучении водородного показателя в исследуемых группах установлено, что наибольшим рН обладают образцы группы № 3 (Na-КМЦ+ коллаген 50%). Значение показателя в данной группе незначительно выше, чем в группах № 1 (Na-КМЦ+ коллаген 15%) (5,235), № 2 (Na-КМЦ+ коллаген 25%) (5,005), № 5 (ГКГ) (5,45). При этом образцы группы № 3 (Na-КМЦ+ коллаген 50%) по уровню рН в 1,19 раза выше, чем в группе № 4 (губка на основе Na-КМЦ), в 1,6 раза выше, чем в группе № 6 (Surgicel Fibrillar), и в 1,21 раза выше, чем в группе № 7 («Тахокомб»). Минимальным значением уровня рН отличались образцы группы 6 (Surgicel Fibrillar) – 3,535 [3,398; 3,73].

Полученные потенциометрическим методом значения рН в соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» находятся в диапазоне от 4,5 до 7,5, за исключением показателя кровоостанавливающего средства «Surgicel Fibrillar» – 3,535 [3,398; 3,73]. Приближение значений уровня рН к нейтральным исключает возможность негативных воздействий материала за счет значимого для тканей организма сдвига реакции в кислую сторону. Показатель, полученный в опытных группах, соответствует требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания относительно губчатых кровоостанавливающих средств.

Структурные особенности образцов ГПКС. Изученные образцы представляют собой губку, состоящую из хаотично распределенных в ее структуре волокон и равномерно распределенных в их толще воздушных микрополостей. По результатам световой и электронной микроскопии при изучении структурных свойств образцов установлено, что большая площадь пор выявлена в образцах группы № 1 (Na-КМЦ+ коллаген 15%) - 1,215, что в 1,45 раза выше, чем в группе № 2 (Na-КМЦ+ коллаген 25%), в 2,7 раза выше, чем в группе № 3 (Na-КМЦ+ коллаген 50%), в 1,15 раза выше, чем в группе № 4 (губка на основе Na-КМЦ), 1,25 раза выше, чем в группе № 5 (ГКГ), в 2,66 раза выше, чем в группе № 6 (Surgicel Fibrillar) и в 1,24 раза выше, чем в группе № 7 («Тахокомб»). Что касается толщины волокон, то наибольшим показателем обладают образцы группы № 3 (Na-КМЦ+ коллаген 50%): в 1,9 раза выше, чем в группе № 1 (Na-КМЦ+ коллаген 15%), в 2,56 раза выше, чем в группе № 2 (Na-КМЦ+ коллаген 25%), в 1,35 раза выше, чем в группе № 4 (губка на основе Na-КМЦ), в 1,87 раза выше, чем в группе № 5 (ГКГ), в 2,28 раза выше, чем в группе № 6 (Surgicel Fibrillar) и в 2,08 раза выше, чем в группе № 7 («Тахокомб»).

Образцы опытных групп (1-3) обладают большей площадью пор, чем в группах контроля и сравнения, что усиливает их гемостатическую активность за счет большей поверхности контакта жидкой части крови и твердого фрагмента губки.

Наибольшая толщина волокон выявлена у образцов группы № 3, где содержание коллагена и Na-КМЦ одинаковое (по 50%). Это связано с тем, что оба полимера участвуют в формировании волокон в процессе лиофильного высушивания раствора на этапе изготовления.

Время свертывания крови в присутствии опытных образцов оказалось минимальным и отличалось статистически значимо ($p < 0,05$) как от контрольных групп, так и от групп сравнения (рисунок 7).

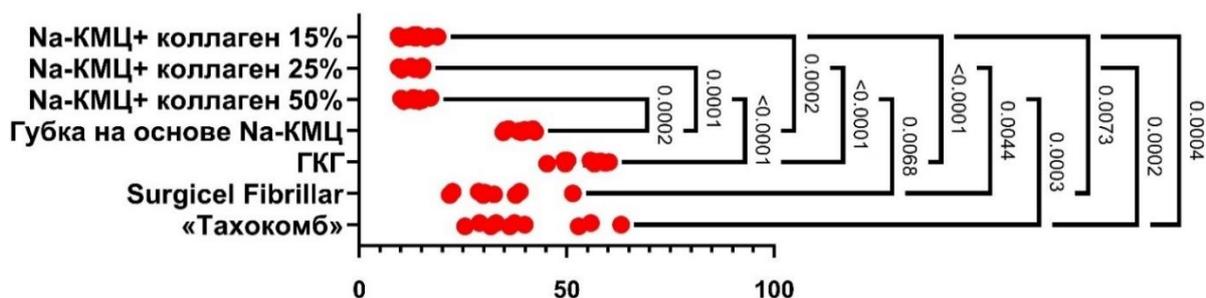


Рисунок 7 – Время свертывания крови под влиянием образцов изучаемых ГПКС, сек

Менее дисперсные данные показателей свертываемости крови под влиянием опытных образцов свидетельствуют о влиянии коллагена морского происхождения, внесенного в структуру средства, на процесс коагуляции за счет его биологических свойств. При этом не обнаружено статистически значимых отличий ($p > 0,05$) между временем свертывания донорской крови в опытных группах, где использовались образцы с различным содержанием морского коллагена. Данный факт свидетельствует об отсутствии дозозависимости в отношении коагуляции в том диапазоне концентраций морского коллагена, который использовали в данной работе. Даже 15% концентрация коллагена морского происхождения в губчатом средстве статистически значимо ($p < 0,05$) по отношению ко всем другим изученным образцам ускоряла процесс свертывания крови *in vitro*.

В остром опыте на модели травмы печени показано, что опытные образцы ГПКС в большинстве исследований по выраженности кровоостанавливающего эффекта (время кровотечения и объем кровопотери) по эффективности превосходили образцы из групп контроля и сравнения (рисунки 8, 9).

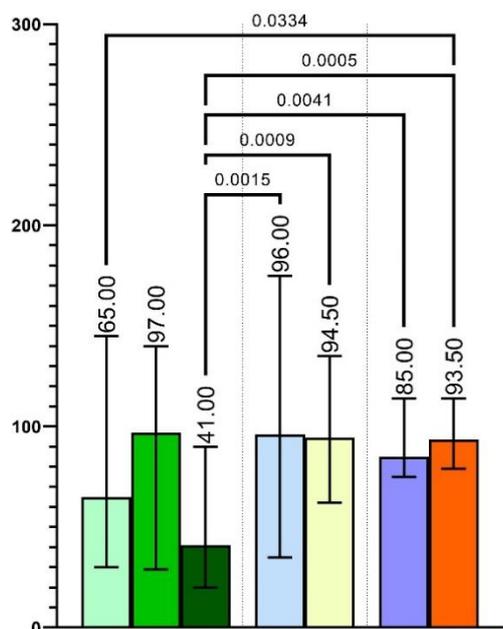


Рисунок 8 – Время кровотечения на модели травмы печени при использовании изучаемых образцов ГПКС, сек

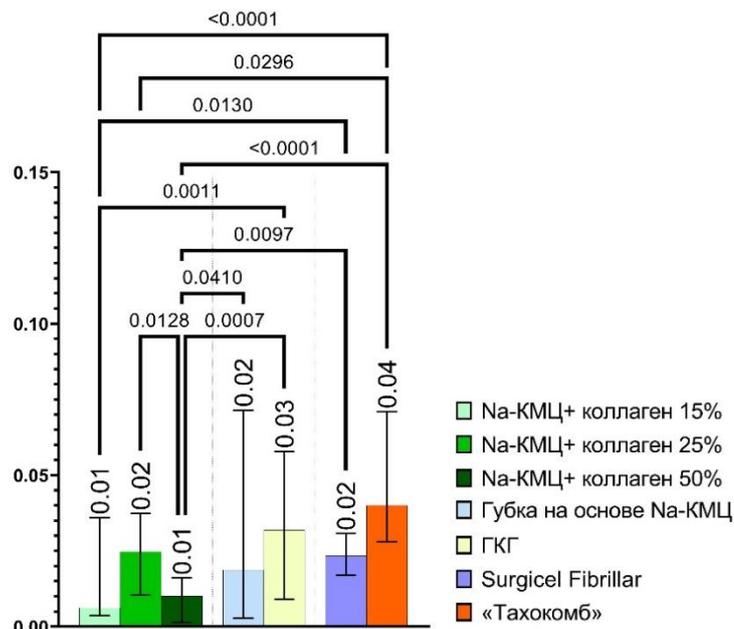


Рисунок 9 – Объем кровопотери на модели травмы печени при использовании изучаемых образцов ГПКС, г

Опытный образец, содержащий в своем составе 15% коллагена, статистически значимо ускорял время, требуемое для остановки кровотечения по сравнению с ГКГ и «Тахокомб»; уменьшал объем кровопотери по сравнению с ГКГ, образцами Surgicel Fibrillar и «Тахокомб». Опытные образцы, содержавшие 25% и 50% коллагена, статистически значимо ($p < 0,05$) ускоряли время, требуемое для остановки кровотечения, и объем кровопотери по сравнению со всеми выбранными в качестве контрольных образцами. Такие результаты объяснимы с учетом отличия механических свойств образцов: структура с большей пористостью, обладая большей емкостью, способна поглощать жидкость в большем объеме, а применение менее эластичных вариантов, содержащих меньшее количество коллагена в своем составе, требует больше времени для остановки кровотечения.

Реакция организма животных на подкожное размещение ГПКС.

После аутопсии и забора материала макроскопически у всех животных при последующей микроскопии (на 7-е сутки) вокруг имплантированного материала определяется равномерной толщины волокнистая соединительнотканная капсула. Полость, где находился материал в виде разноразмерных скоплений, разделена клеточно-волокнистыми трабекулами, состоящими из пучков

молодых коллагеновых волокон, преимущественно юных фибробластов, лимфоцитов и макрофагов в группе (рисунки 10, 11).

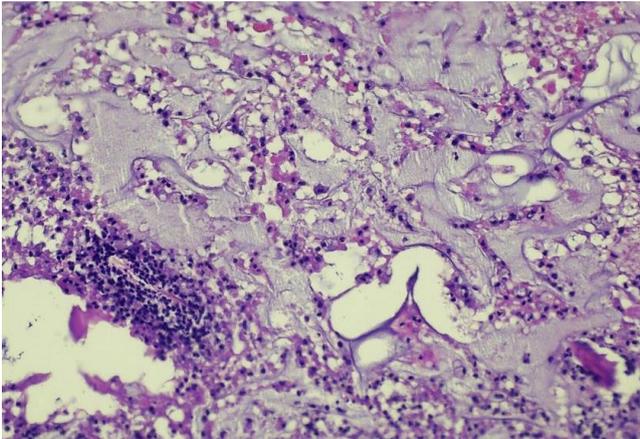


Рисунок 10 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

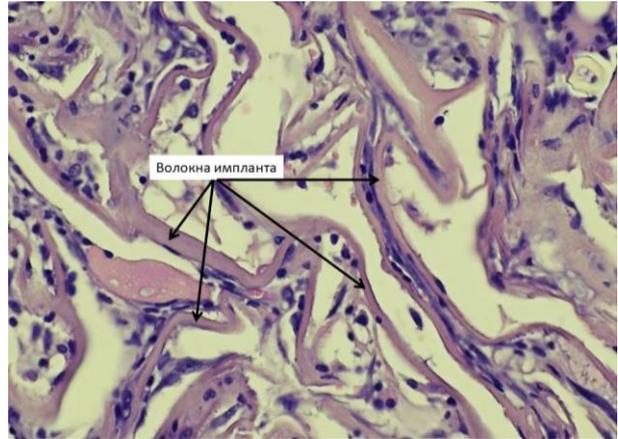


Рисунок 11 – Микрофотография. Образец «Тахокомб» на 7-е сутки размещения в подкожно-жировой клетчатке. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x400

На 28-е сутки наблюдения отмечается увеличение толщины капсулы (рисунки 12, 13).

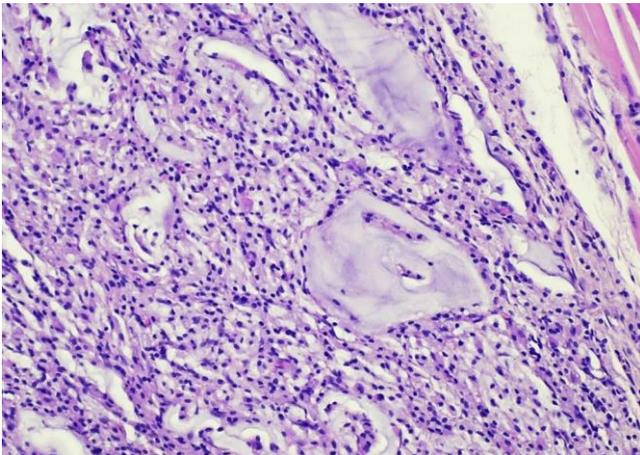


Рисунок 12 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

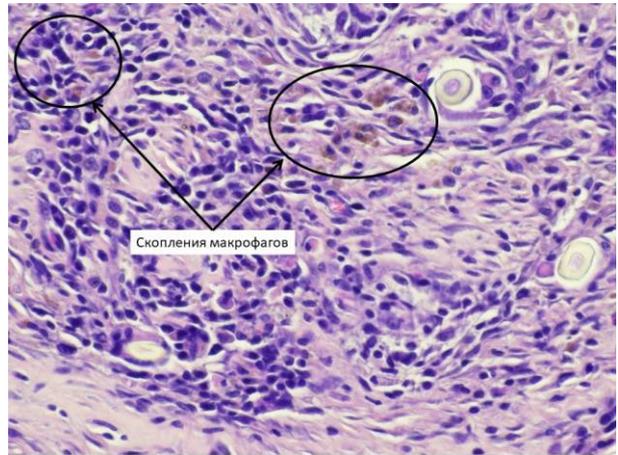


Рисунок 13 – Микрофотография. Образец «Тахокомб» на 28-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x400

Важным критерием сравнения является клеточный состав капсулы и выраженность соединительнотканного компонента (волокнистой ткани) (рисунки 14). Так, в группе Na-КМЦ+коллаген 15% на всех сроках наблюдения отмечается практически равномерное распределение волокнистого слоя капсулы, а в группе Na-КМЦ+коллаген 25% – постепенно снижается выраженность волокнистого слоя капсулы к 28-м суткам эксперимента. И,

наоборот, в группе Na-КМЦ+коллаген 50% отмечается увеличение толщины волокнистого слоя капсулы вокруг исследуемых образцов.

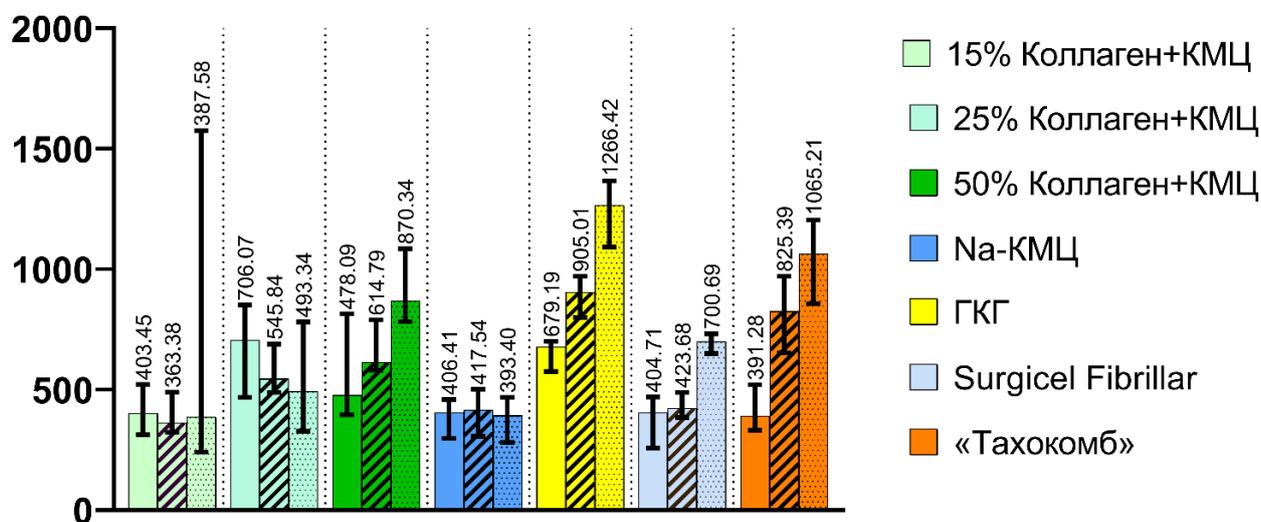


Рисунок 14 – Диаграмма. Толщина волокнистого слоя вокруг исследуемых образцов после подкожного размещения на 7-е, 14-е, 28-е сутки, мкм

Интегральная оценка клеточного состава капсулы проводилась путем расчета клеточного индекса (КИ) – отношение количества клеток-резидентов к общему количеству клеток-нерезидентов. При этом во всех группах исследования обнаружено увеличение уровня КИ по мере увеличения срока эксперимента (от 7 до 28 суток соответственно), что говорит о преобладании соединительнотканного компонента капсулы над клеточно-воспалительным (рисунок 15).

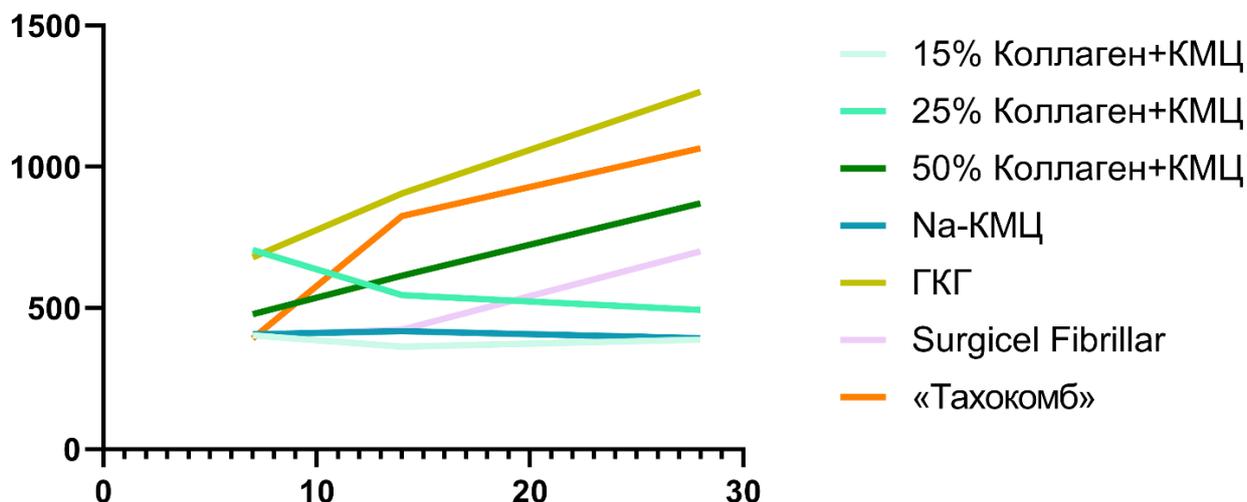


Рисунок 15 – Динамика изменения толщины волокнистого слоя капсулы вокруг образцов после подкожного размещения на 7-е, 14-е, 28-е сутки, мкм

Наибольшие значения КИ отмечены в группе ГКГ на 28-е сутки, а показатели разработанных изделий (в частности, Na-КМЦ+коллаген 50%) незначительно уступали данному образцу и тоже достигали высоких значений.

Гистологические изменения в тканях вокруг образцов подтверждались уровнем гидроксипролина в местах размещения ГПКС. В опытных группах на всех сроках наблюдения отмечается тенденция повышения уровня гидроксипролина с увеличением концентрации коллагена в образцах: 1→2→3. В большинстве сравнений данная тенденция носила статистически значимый характер ($p < 0,05$) (рисунок 16).

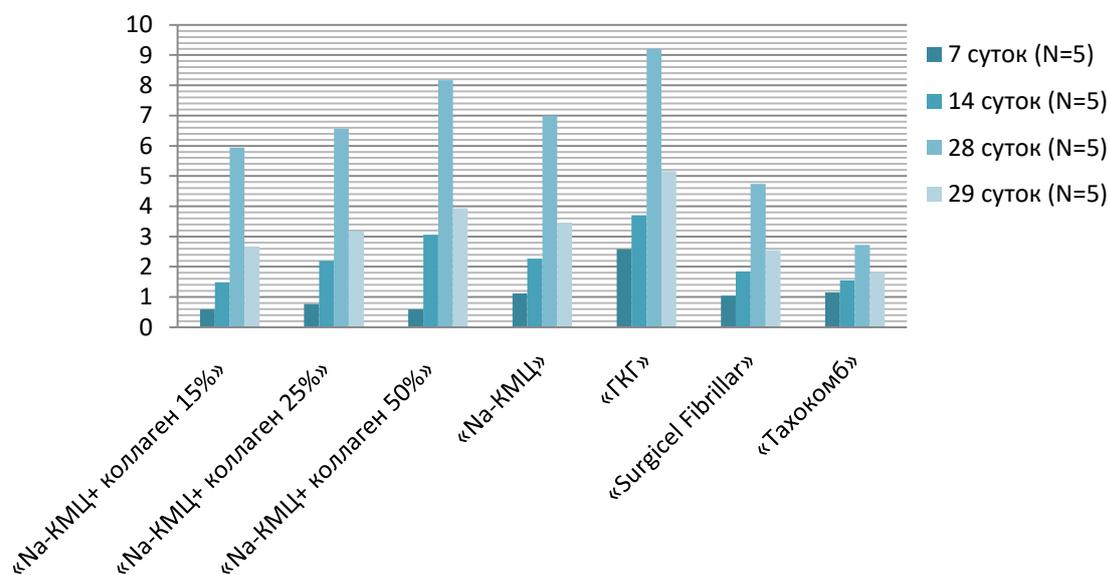


Рисунок 16 – Гистограмма. Значения клеточного индекса в исследуемых группах животных на различных сроках наблюдения (относительные единицы)

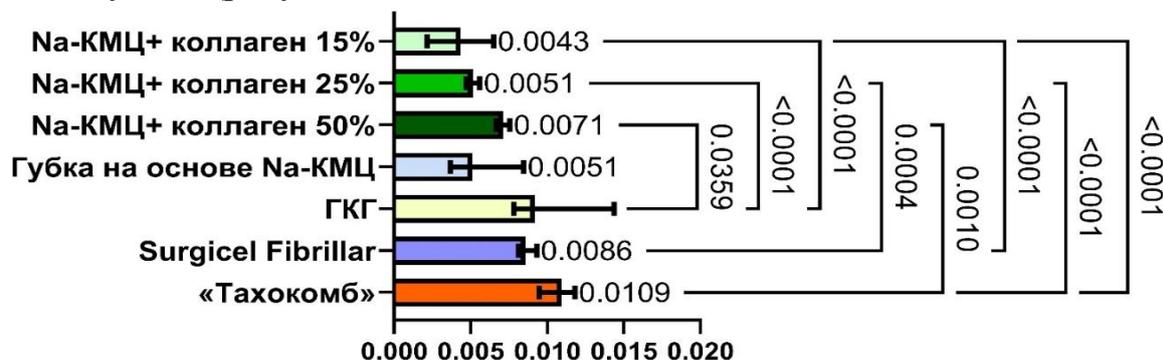
Уровень гидроксипролина при имплантации образцов, состоящих только из Na-КМЦ, сопоставим с уровнем, полученным в опытных группах (1-3) на 7-е сутки. Однако отмечена статистически значимая тенденция к увеличению содержания гидроксипролина в тканях на 2-ю и 4-ю недели исследования.

Изучение ГКГ показало статистически значимую выраженность возрастания концентрации гидроксипролина, сравнивая с тремя опытными группами на всех сроках эксперимента.

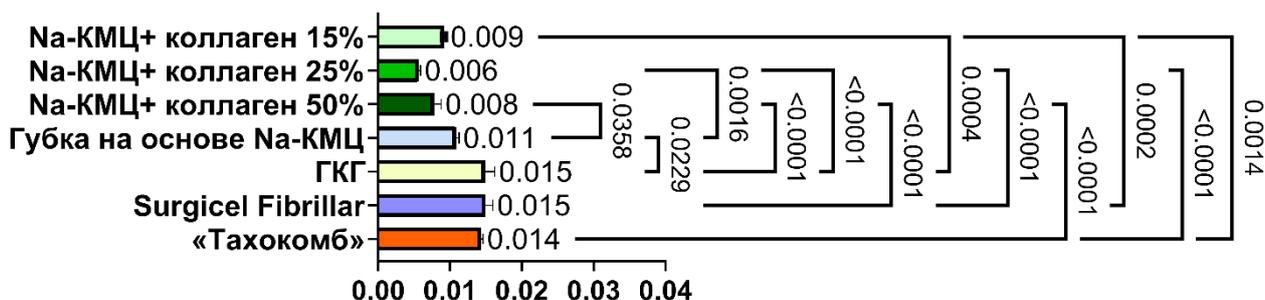
В группах Surgicel Fibrillar и «Тахокомб» на всех сроках наблюдения отмечено увеличение содержания гидроксипролина в соединительнотканной капсуле.

Динамические изменения выраженности неколлагеногенеза в области размещения ГПКС, проявляющиеся тем или иным уровнем гидроксипролина в тканях, выявлены в группах № 1-3, группе с использованием Na-КМЦ (№ 4),

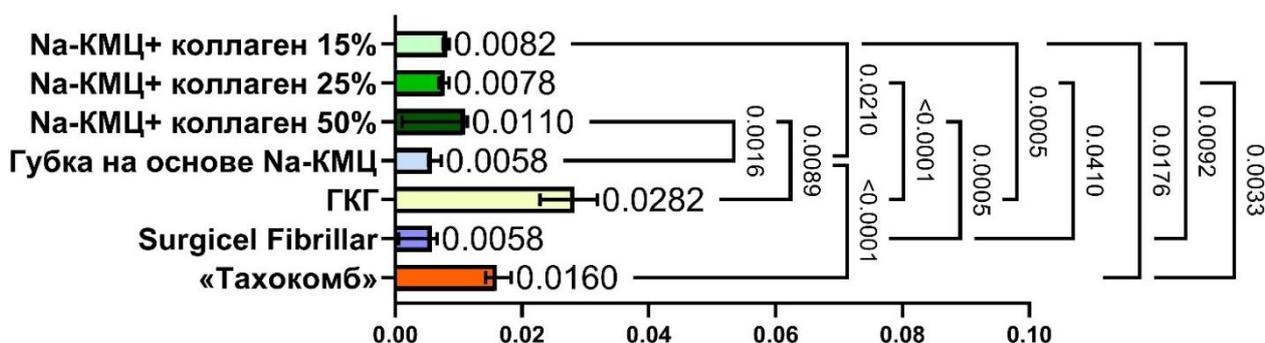
Surgicel Fibrillar (№ 6) и «Тахокомб» (№ 7) существенным увеличением на 7-е сутки, в том числе за счет альтерации при формировании карманов в подкожной клетчатке в процессе моделирования, еще более существенным и значимым увеличением на 14-е сутки и выраженным снижением на 28-е сутки. Процесс не подчинялся этому правилу лишь в 5-й группе, где использовалась ГКГ: уровень гидроксипролина в тканях, окружающих имплант, прогрессивно увеличивался от 7 к 28 суткам (рисунок 17).



А



Б



В

Рисунок 17 – Уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из зоны размещения импланта на 7-е (А), 14-е (Б), 28-е (В) сутки эксперимента, мкг/г

Таким образом, отмечаются постепенная деградация и лизис тестируемых образцов, на 28-е сутки формируется тонкая капсула вокруг фрагментов исследуемых образцов. Общая динамика процессов заключалась в постепенном увеличении толщины коллагеновых волокон, клеточного индекса, а также

концентрации гидроксипролина на протяжении 7 – 28 суток послеоперационного периода.

Результаты изучения местной и общей реакции организма на применение образцов ГПКС в хроническом эксперименте.

Перед моделированием травм печени и на 28-е сутки после операции при изучении показателей общего клинического и биохимического анализов крови статистически значимых отличий не выявлено как при внутригрупповом, так и при межгрупповом сравнении. Это свидетельствует об отсутствии вероятных клинически значимых проявлений в послеоперационный период в ответ на хирургическую интервенцию: геморрагического и воспалительного синдромов, а также нарушений функции печени.

При детальном анализе изменений в брюшной полости независимо от варианта моделирования травмы печени во всех группах исследования спаечный процесс слабо выражен, отмечаются единичные случаи фиксации пряди сальника к области расположения ГПКС в каждой из групп исследования. Также зону моделирования травмы и выступающие фрагменты имплантированных изделий удастся идентифицировать с помощью только лапароскопа, установка дополнительных инструментов для достаточной визуализации не требовалась.

При выполнении КДЛ в группе № 1 на 3-и сутки отмечается наличие спаечных сращений по диафрагмальной поверхности печени, которые сохранялись и на последующих сроках. Ткань печени не изменена, область имплантации не имеет признаков кровотечения, отмечается незначительное количество организовавшихся сгустков крови, оставшихся с момента моделирования травмы печени. Наиболее отчетливо данные изменения отмечаются при моделировании раны печени в толще ее средней доли ввиду обширного и глубокого повреждения паренхимы.

В группе № 2 на 3-и сутки вокруг области имплантации образца обнаружены хорошо визуализируемые кровяные сгустки, само полотно изделия набухает с гладкими краями. В данной группе на 7-е сутки после травмирования печени отмечаются миграция пряди сальника в область импланта и плотная фиксация к его поверхности, сгустки крови подверглись лизису и не определяются. На 14-е сутки отмечается фрагмент импланта, вокруг которого паренхима печени покрыта белесоватой пленкой.

В группе № 3 спаечный процесс не выражен (первые трое суток), но при КДЛ на 3-и сутки отмечается картина, схожая с таковой на 14-е сутки в других группах. На более поздних сроках в данной группе спаечный процесс в области размещения тестируемых образцов не выражен. Паренхима печени в зоне травматизации визуально практически не изменена по сравнению с группами №

1 и № 2.

В группе № 4 отмечается деформация тканей печени уже на 3-и сутки, что сопровождается наличием белых полос в области дефекта паренхимы и стояния средства, при этом визуально определяется набухание образца. На 7-е сутки отмечается массивное разрушение материала тестируемого образца, что подтверждается уменьшением его размеров и нарастанием площади светлой паренхимы печени, сформированной в результате резорбции материалов имплантата. При КДЛ на 14-е сутки признаки деформации паренхимы и рубцовых изменений носят едва различимый характер, остатки материала не визуализируются.

При использовании для остановки кровотечения пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на 3-и сутки после моделирования травмы идентифицируются участки печени, подвергшиеся травмированию, визуализируются фрагменты ГПКС в области правой и левой долей печени. На 7-е сутки послеоперационного периода в местах применения образцов ГПКС присутствуют организовавшиеся сгустки крови. На 14-е сутки в зонах моделирования повреждения появляется рубец белого цвета с неровными контурами без четко определяемых фрагментов образцов и сгустков крови.

Выраженность СПБП при использовании разных образцов гемостатических средств в баллах колебалась от 0 до 2 баллов. В результате ранжирования оценок разных параметров в баллах были найдены суммы рангов, которые в дальнейшем использовались для интегральной оценки выраженности СПБП и его сравнения между разными группами и в динамике.

На 28-е сутки в зоне травмы печени и применения для остановки кровотечения как опытных, так и контрольных образцов ГПКС остатки инородного материала не визуализируются, локальные проявления во всех группах не имеют существенного отличия и состоят в формировании неправильной формы белесоватых рубцов, не деформирующих печень, покрытых блестящей прозрачной брюшиной. В отдельных случаях к области вмешательства фиксирован сальник.

Максимальной выраженность СПБП по сумме рангов балльной оценки оказалась при использовании для остановки кровотечения опытного образца № 3 (Na-КМЦ+коллаген 50%) – 267, на втором месте по данному показателю – группа животных с использованием губки коллагеновой гемостатической – 264, на третьем месте выраженность СПБП при использовании пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» – 231, на четвертом – опытного образца № 2 (Na-КМЦ+коллаген 25%) – 196 и на пятом опытного образца № 2 (Na-КМЦ+коллаген 15%) – 192. Однако отличия между группами по суммарной

оценке выраженности СПБП не носили статистически значимого характера.

Статистически значимое уменьшение степени морфологической организации спаек отмечено при использовании для остановки кровотечения экспериментального средства в группе № 1 (Na-КМЦ+коллаген 15%) между значениями этого показателем на 3-и и 14-е сутки, а также 7-е и 14-е сутки эксперимента.

Распространенность спаек позволила обнаружить идентичную тенденцию: уменьшение к 3-м суткам, незначительное увеличение к 7-м и последующее снижение к 14-м. При этом данная тенденция носила статистически значимый характер при использовании опытных образцов №1 (Na-КМЦ+коллаген 15%) и №2 (Na-КМЦ+коллаген 25%).

Наблюдения до 28 суток и анализ гистологической картины реакции тканей печени лабораторных животных на ГПКС (рисунки 18-22) позволяют сделать вывод о полном завершении резорбции образцов к указанному сроку безотносительно к процентному содержанию в них коллагена или же Na-КМЦ. Наблюдаемые в части случаев изменения паренхимы печени в виде нарушения геометрии печеночных балок, расширения синусоидных капилляров, более или менее выраженной гидропической дистрофии связаны со степенью интеграции волокнистого каркаса регенерата в соединительнотканную строму печени, скорости процесса ремоделирования плотной волокнистой соединительной ткани самого регенерата. Последнее может быть связано с различной степенью травматизации паренхимы печени при моделировании раны в толще органа, краевого повреждения или поверхностного повреждения печени.

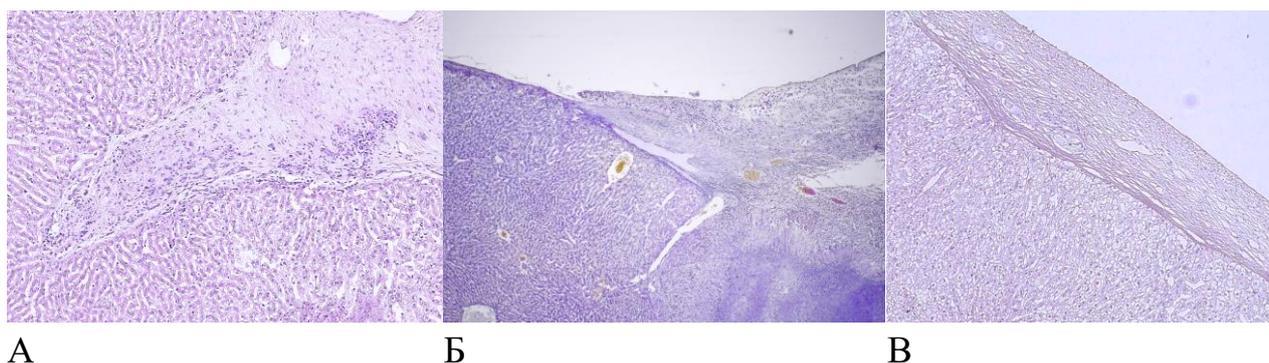
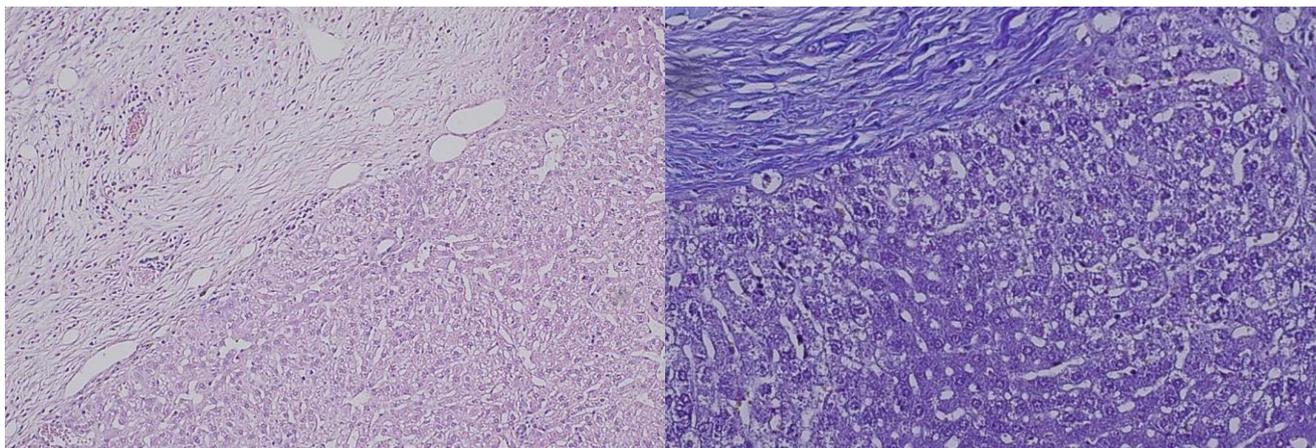


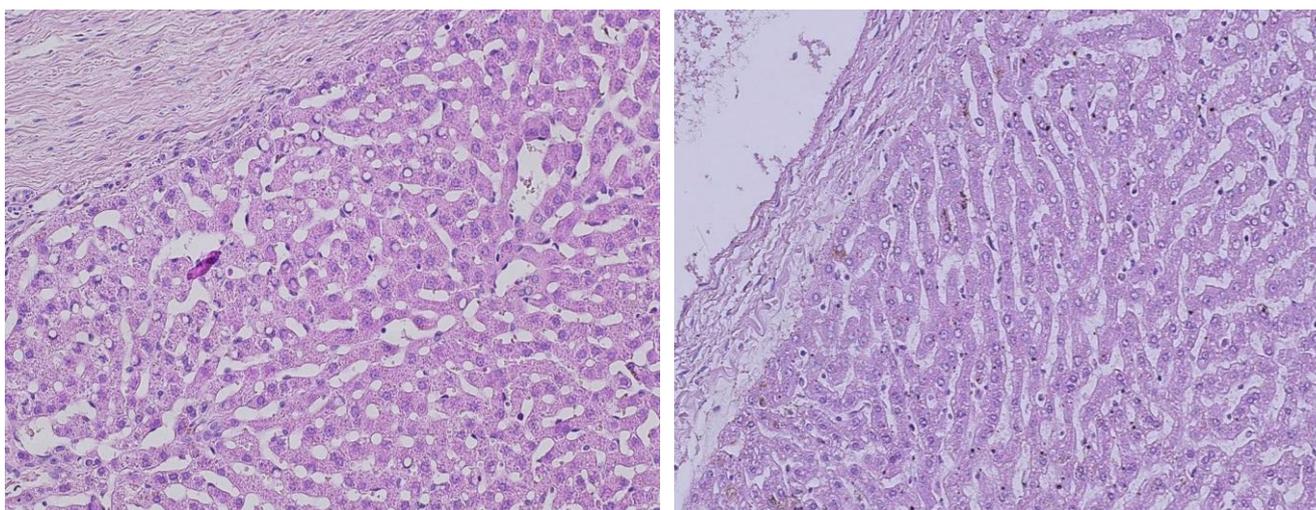
Рисунок 18 – Микрофотография. 28 суток. Использование для остановки кровотечения образца Na-КМЦ+коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином, ув. x100. А – на модели травматической полости в толще средней доли печени; Б – краевой раны правой доли печени; В – поверхностной раны левой доли печени



А

Б

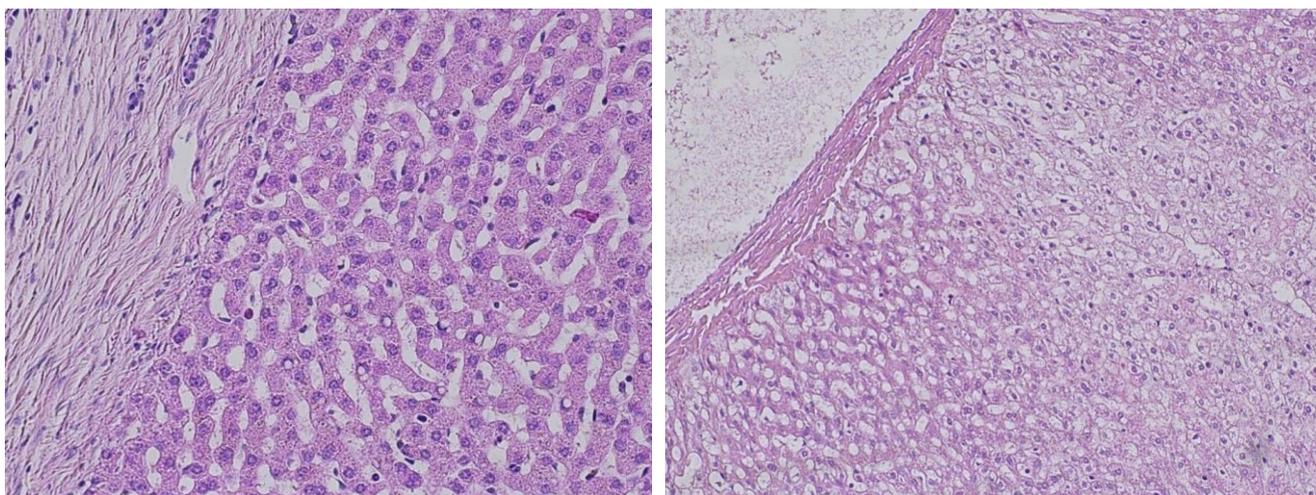
Рисунок 19 – Микрофотография. 28 суток. Использование для остановки кровотечения образца Na-КМЦ+коллаген 25%. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х200. А – на модели травматической полости в толще средней доли печени; Б – поверхностной раны левой доли печени



А

Б

Рисунок 20 – Микрофотография. 28 суток. Использование для остановки кровотечения образца Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином, ув. х200. А – на модели травматической полости в толще средней доли печени; Б – поверхностной раны левой доли печени



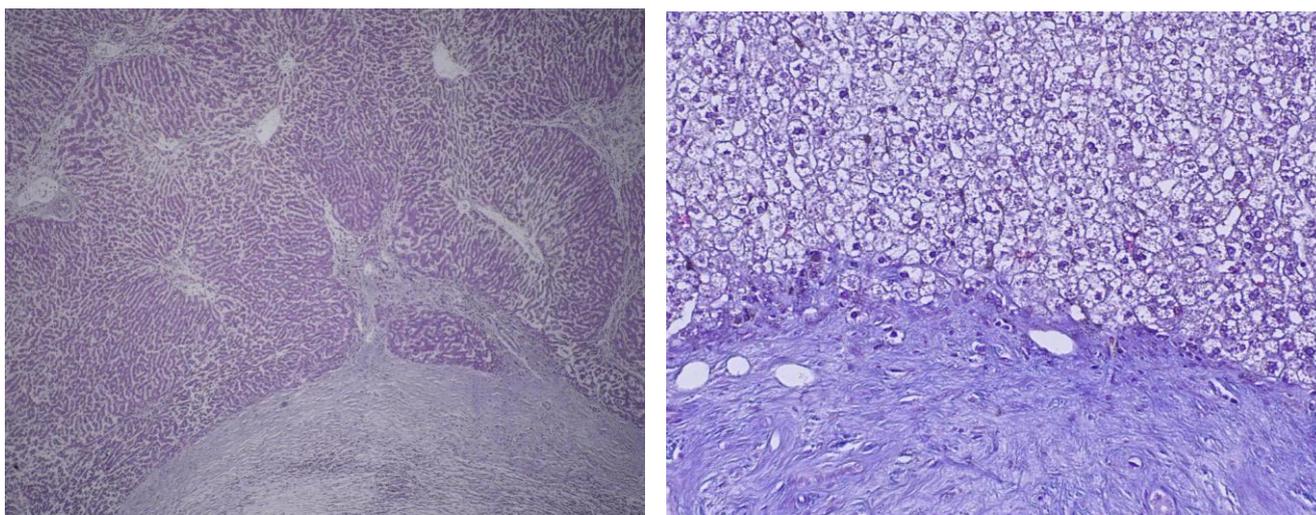
А

Б

Рисунок 21 – Микрофотография. 28 суток. Использование для остановки кровотечения образца ГКГ. Окраска гематоксилин-эозином, ув. x200.

А – на модели травматической полости в толще средней доли печени;

Б – поверхностной раны левой доли печени



А

Б

Рисунок 22 – Микрофотография. 28 суток. Использование для остановки кровотечения пластины кровоостанавливающей «Тахокомб». Окраска гематоксилин-эозином. А – на модели травматической полости в толще средней доли печени, ув. x40; Б – поверхностной раны левой доли печени, ув. x200

Ранжирование образцов материалов в опытных, контрольных группах и группах сравнения позволило посредством суммирования их позиций выделить наиболее выгодный для использования с целью остановки кровотечения материал. Таковым оказался опытный образец Na-КМЦ+коллаген 25%, набравший максимальную сумму рангов – 83 (таблица 3).

Таблица 3 – Итоговое ранжирование образцов ГПКС

Свойства изученных образцов	Опыт			Контроль		Сравнение	
	Na-КМЦ+ коллаген 15%	Na-КМЦ+ коллаген 25%	Na-КМЦ+ коллаген 50%	Na-КМЦ	Губка коллагеновая гемостатическая	Средство кровоостанавливающее «Surgicel Fibrillar»	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»
Остаточная деформация через 5 мин. после сжатия	7	6	4	2	3	1	5
Остаточная деформация через 10 мин. после сжатия	5	7	4	2	3	1	6
Остаточная деформация через 30 мин. после сжатия	5	7	4	2	1	3	6
Площадь поры	7	3	2	6	5	1	4
Толщина волокон	4	7	1	2	3	5	6
Гидроскопичность	1	4	5	2	7	3	6
Степень адгезии	7	5	6	4	3	1	2
Полная пористость	4	6	7	1	3	5	2
рН-метрия	5	4	7	3	6	1	2
Толщина капсулы вокруг исследуемых образцов	7	5	3	6	1	4	2
Значение КИ в исследуемых группах животных	5	4	2	3	1	6	7
Концентрация гидроксипролина в тканях капсулы вокруг ГПКС	6	7	3	4	1	5	2
Время свертывания крови	5	7	6	4	2	3	1
Время кровотечения при травме печени	6	5	7	2	3	4	1
Объем кровопотери при травме печени	7	6	3	5	2	4	1
Сумма рангов	81	83	64	48	44	47	53

Заключение

Основываясь на проведенных экспериментальных исследованиях, можно заключить, что 25% концентрация коллагена в структуре кровоостанавливающего средства является оптимальной: с одной стороны, этого достаточно для потенцирования его кровоостанавливающего эффекта за счет биологического действия, с другой стороны, данное количество коллагена не вызывает негативных тканевых ответов в виде иммунного воспаления с развитием избыточного фиброза. Химический состав ГПКС обуславливает его сопоставимый с аналогами уровень биосовместимости, рН и гидрофильности. Физические и морфологические особенности опытных образцов лежат в основе их позитивных манипуляционных свойств.

Химическая структура и пространственная организация гемостатического средства обуславливают противовоспалительный эффект в зоне размещения за счет противоотечного действия Na-КМЦ и низкой иммуногенности коллагена морского происхождения, обеспечивающих в свою очередь низкую степень активации макрофагов и фибробластов.

Высокая адгезивная способность позволяет применять бесшовные технологии, сокращая время вмешательства, снижая его травматичность за счет нанесения средства на раневую поверхность, в том числе при миниинвазивных операциях из эндоскопического доступа.

Принимая во внимание полученные результаты исследования, можно судить о позитивном влиянии включения коллагена в состав ГПКС: повышение эффективности средства (ускорение коагуляции, уменьшение времени кровотечения и объема кровопотери). Выпуск изделия может быть инициирован на базе отечественных предприятий, деятельность которых направлена на выпуск изделий медицинского назначения без использования дорогостоящего импортного сырья и оборудования, что соответствует концепциям импортозамещения и внедрения опережающих технологий. Дальнейшее исследование новых поколений ГПКС позволит оценить возможность и перспективы их внедрения в клиническую практику хирургических стационаров и включения в стандарты оказания помощи, а также откроет перспективы для расширения показаний и адаптации к применению в других хирургических специальностях (рисунок 23).

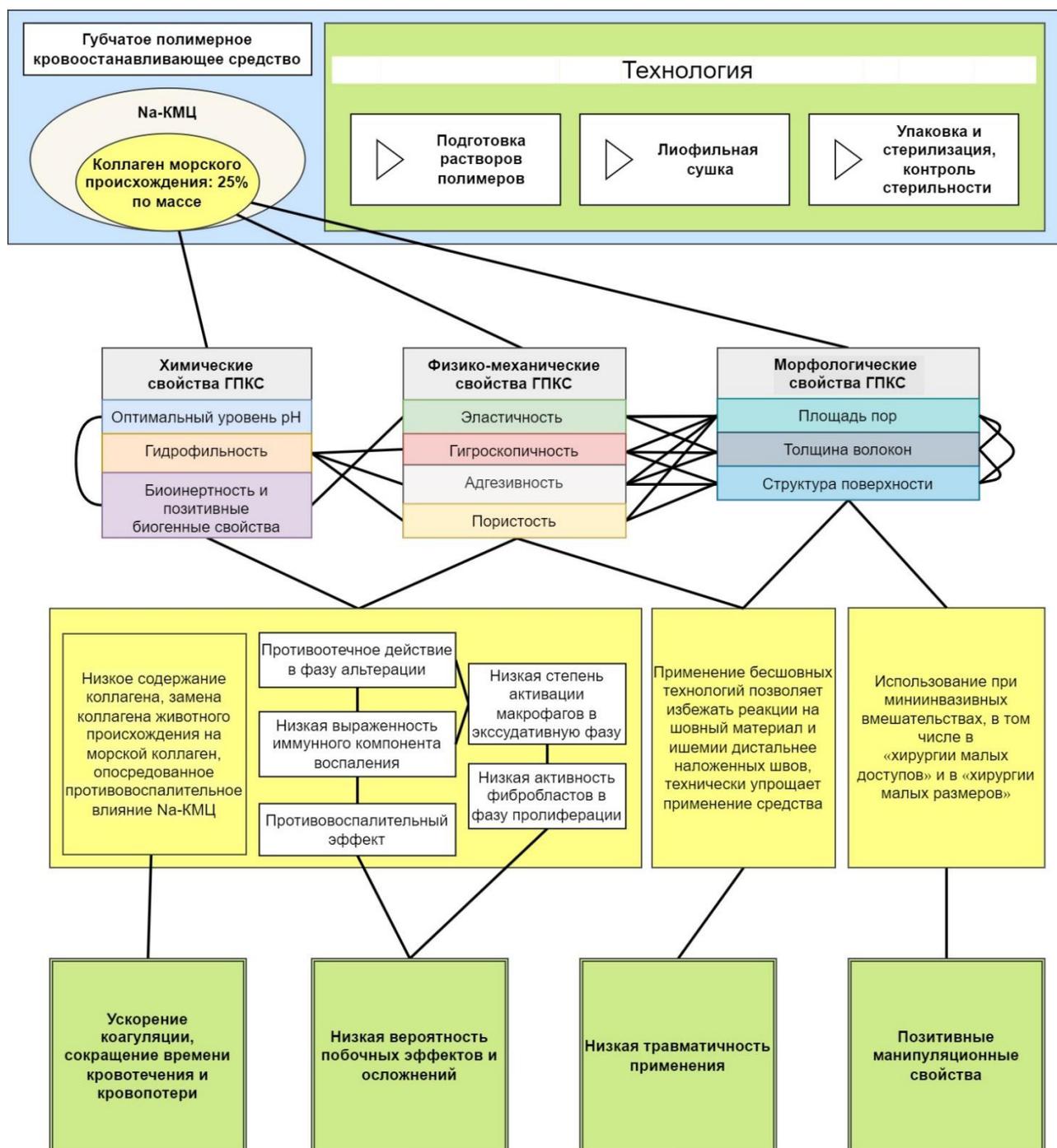


Рисунок 23 – Концепция разработки и перспективы применения ГПКС на основе Na-КМЦ и коллагена морского происхождения

ВЫВОДЫ

1. Консолидированное мнение экспертов заключается в следующем: губчатое полимерное кровоостанавливающее средство должно надежно останавливать кровотечение, обладать антибактериальной активностью, апирогенностью, высокой адгезивной способностью, биodeградировать в течение 5-10 суток и останавливать кровотечение в течение 2-3 минут, гарантировать невозможность рецидива.

2. Предложенное устройство позволяет в условиях эксперимента изучать физические характеристики швов и оценивать прочностные свойства паренхимы печени. Полифиламентные нити ($p < 0,05$) на 26,48% (крученые) и на 16,42% (плетеные) по прилагаемой силе натяжения, на 25,35% (крученые) и на 14,66% (плетеные) по степени вытяжения нитей снижают эффект прорезывания волокна через паренхиму органа.

3. Разработаны новые образцы комбинированных губчатых полимерных кровоостанавливающих средств, которые состоят из Na-КМЦ и коллагена морского происхождения в нескольких вариантах пропорции компонентов: 85%:15%, 75%:25% и 50%:50% по массе соответственно, которые имеют вид полотна пористого материала белого или слегка кремового цвета толщиной 1,0-1,1 см.

4. Наименьшей остаточной деформацией обладает средство кровоостанавливающее «Surgicel Fibrillar» (13,26%); наибольшей сорбционной способностью обладают образцы группы ГКГ(2,03 ммоль/л); максимально полной пористостью – образец № 2 (Na-КМЦ + коллаген 25%) (153,6 мл/см³); наибольшей силой адгезии обладают образцы группы № 1 (Na-КМЦ + коллаген 15%) (2,705 Н); большей площадью пор – образцы группы № 1 (Na-КМЦ + коллаген 15%) (1,215 мм²); максимальной толщиной волокон – образцы группы № 3 (Na-КМЦ + коллаген 50%); наибольшими значениями водородного показателя – образцы группы № 3 (Na-КМЦ + коллаген 50%) (5,235).

5. Морфологические процессы при подкожном размещении тестируемых образцов заключались в постепенной деградаци и лизисе материала, воспалительной реакции подкожно-жировой клетчатки, формировании капсулы с образованием на 28-е сутки максимально положительных свойств: минимальной толщины волокнистого слоя капсулы (Na-КМЦ + коллаген 15%), максимальных значений клеточного индекса (Na-КМЦ + коллаген 50% / губка гемостатическая коллагеновая), максимальной концентрации гидроксипролина в тканях из зоны повреждения (губка гемостатическая коллагеновая). Общая тенденция процессов заключалась в увеличении толщины коллагеновых волокон, клеточного индекса и концентрации гидроксипролина на протяжении 7 – 28 суток послеоперационного периода.

6. Разработан и модифицирован способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro*, основанный на сравнительном анализе времени свертывания крови в присутствии тестируемого образца при помощи коагулометра. Влияние образцов ГПКС на средние значения времени свертывания крови было минимальным в опытных группах: Na-КМЦ + коллаген 25% (13,05 сек.), Na-КМЦ + коллаген 50%

(13,43 сек.) и Na-КМЦ + коллаген 15% (13,45 сек.), – что оказалось в 2,9 раза меньше такового при сравнении с Na-КМЦ, в 4,3 раза – по сравнению с ГКГ ($p < 0,05$), в 2,3 раза – по сравнению со средством кровоостанавливающим «Surgicel Fibrillar» ($p < 0,05$) и в 2,8 раза – по сравнению с пластиной кровоостанавливающей «Тахокомб» ($p < 0,05$).

7. Время кровотечения при использовании образцов Na-КМЦ + коллаген 25% сопоставимо с контрольными группами ($p > 0,05$), образцы Na-КМЦ + коллаген 15% статистически значимо сокращали время кровотечения по отношению к группам сравнения на 23,5% – 32,3%; образцы Na-КМЦ + коллаген 50% проявляли схожие свойства, сокращая время кровотечения на 51,8% – 57,3% ($p < 0,05$); объем кровопотери при использовании Na-КМЦ + коллаген 25% сопоставима с группами сравнения ($p > 0,05$), а по сравнению с пластиной кровоостанавливающей «Тахокомб» этот показатель уменьшился на 50% ($p < 0,05$); образцы Na-КМЦ + коллаген 15% и Na-КМЦ + коллаген 50% статистически значимо уменьшили объем кровопотери по отношению к группам сравнения на 50% – 75% ($p < 0,05$).

8. Разработанные способы моделирования позволяют из лапароскопического доступа воспроизводить травмы печени у лабораторных животных для последующего исследования эффективности гемостатических материалов. После остановки кровотечения местными гемостатиками морфологические проявления заключались в деградации и резорбции кровоостанавливающего средства, формировании зрелой волокнистой соединительной ткани, в процессе которого отмечалось замедление темпов в тех сериях, где использовали средство, в структуру которого входила Na-КМЦ. Изменения паренхимы печени состояли лишь в гидропической дистрофии и расширении синусоидных капилляров. Показатели общего и биохимического анализов крови позволили исключить цитолитический и воспалительный синдромы.

9. По выраженности спаечного процесса брюшной полости в зависимости от его распространенности, морфологии сращений и степени деформации органов, преобразованных в ранги с последующим их суммированием, изучаемые образцы от максимальных до минимальных значений распределились следующим образом: Na-КМЦ + коллаген 50% / губка гемостатическая коллагеновая > пластина кровоостанавливающая «Тахокомб» > Na-КМЦ + коллаген 15% / Na-КМЦ + коллаген 25%.

10. Максимальное количество баллов по результатам интегральной ранговой оценки параметров новых многокомпонентных губчатых полимерных кровоостанавливающих средств получил образец, содержащий 25% коллагена.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложенное в данной работе губчатое полимерное кровоостанавливающее средство, состоящее из комбинации натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (75%) и коллагена морского происхождения (25%), предлагается для промышленного производства.

2. При ушивании травматических или операционных дефектов печени и других паренхиматозных органов для предотвращения прорезывания шовного материала через их ткани рациональным является применение в качестве уплотняющего и кровоостанавливающего материала губчатых полимерных кровоостанавливающих средств.

3. Алгоритм тестирования и система интегрального изучения новых образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств могут быть применимы для комплексной оценки эффективности и безопасности новых кровоостанавливающих средств при проведении доклинических испытаний.

4. С целью тестирования разрабатываемых образцов новых кровоостанавливающих средств предлагается использовать комплексный подход с поэтапным определением их физических, структурных и химических свойств, коагулологических и гемостатических эффектов, биосовместимости изучаемых материалов, в том числе с использованием разработанных в данном исследовании технических решений:

- «Устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов»,
- «Способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro*»,
- «Способ лапароскопического моделирования рваной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов».

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Данные, полученные в результате исследования, являются предпосылкой к развитию нового научного направления, суть которого заключается в научно обоснованном минимально инвазивном применении комбинированных средств для остановки паренхиматозного кровотечения, состоящих из биodeградируемых полимеров: высокогидрофильной натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и коллагена в том числе морского происхождения. Внедрение в клиническую практику многокомпонентных кровоостанавливающих средств позволит заметно повысить результативность и снизить вероятность интраоперационных и послеоперационных осложнений в

процессе оперативного вмешательства на паренхиматозных органах, в первую очередь, на печени, почках, селезенке, поджелудочной железе и т.д.

Средство из Na-КМЦ, состоящее на четверть по массе из коллагена морского происхождения, позволяет одновременно повысить кровоостанавливающую эффективность, добиться адгезивного и позитивного опосредованного противовоспалительного эффекта. При этом применение коллагена именно морского происхождения отечественного производства является особенно перспективной альтернативой «животному» коллагену ввиду более низкой иммуногенности и низкого риска трансмиссивных инфекций.

С учетом полученных в данном исследовании результатов открывается возможность разработки ассортимента средств для отдельных хирургических отраслей с учетом технической специфики и клинических потребностей: аппликационная остановка кровотечений с их использованием в просвете полых органов, при эндоскопических вмешательствах, в инфицированных условиях, в условиях повышенного риска избыточного фиброза, при наличии неопластического процесса и т.п. Необходимо также изучить и доработать технологию управления параметрами изделия в процессе его изготовления. Перспективным является и поиск новых полимеров в качестве основы будущих медицинских изделий. Рациональным представляется необходимость продолжения исследований по изучению и применению новых и модификации существующих методик тестирования губчатых полимерных кровоостанавливающих средств в условиях эксперимента.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гемостаз в хирургии : монография / В. А. Липатов, П. В. Ткаченко, И. Л. Привалова [и др.] ; под общей редакцией: В. А. Лазаренко, В. А. Горского / Курский государственный медицинский университет . – Курск : КГМУ, 2023. – 213 с. ISBN 978-5-7487-2674-0.

2. **Гистологическая картина изменений в зоне размещения образцов комбинированных губчатых кровоостанавливающих средств / В. А. Липатов, А. А. Денисов, А. В. Иванов // Человек и его здоровье. 2025. – Т. 28, № 1. – С. 4–12. – DOI: 10.21626/vestnik/2025-1/01.**

3. Динамика показателей коагулограммы после травмы печени в эксперименте *in vivo* / В. П. Гаврилюк, В. А. Липатов, У. С. Станоевич, И. Н. Ишков, С. В. Лазаренко [и др.] // Медицинская техника. – 2021. – № 3(327). – С. 18–21.

4. **Интегральный анализ эффективности губчатых кровоостанавливающих полимерных средств / С. В. Лазаренко // Человек и его здоровье. 2025. – Т. 28, № 1. – С. 13–20. DOI: 10.21626/vestnik/2025-1/02.**

5. **Исследование гистологических особенностей реакции печени при использовании новых образцов полимерных кровоостанавливающих материалов в эксперименте in vivo / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, А. В. Тарасова // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2020. – Т. 13, № 1 (46). – С. 34–40.**

6. **Исследование мнения врачей-хирургов об использовании гемостатических аппликационных материалов / Г. А. Бондарев, В. А. Липатов, С. В. Лазаренко [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2020. – № 8. – С. 61–68.**

7. **Исследование особенностей поверхности аппликационных гемостатических имплантов / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, А. А. Ушанов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2019. – Т. 12, № 4. – С. 261–265.**

8. **Исследование ткани печени при местном применении новых губчатых кровоостанавливающих средств в эксперименте / В.А. Липатов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2024. - Т. 231. - N 11. - С. 120-128.**

9. **Исследование физико-механических характеристик шовного материала в эксперименте при операциях на печени / В. А. Липатов, Д. А. Северинов, А. А. Денисов, Н. Н. Григорьев, С. В. Лазаренко // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2020. – Т. 28, № 2. – С. 193–199.**

10. **К вопросу о методологии сравнительного изучения степени гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, К. А. Сотников [и др.] // Новости хирургии. – 2018. – Т. 26, № 1. – С. 81–95.**

11. **Лазаренко, С. В. Анализ гемостатической активности новых образцов местных гемостатических средств на основе НА-КМЦ и коллагена при травме селезенки в эксперименте / С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, В. А. Липатов // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2024. – Т. 18, № S1.1. – С. 26.**

12. **Лазаренко, С. В. Оценка эффективности новых образцов местных гемостатических средств / С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины-2024 : сборник тезисов**

LXXXV научно-практической конференции с международным участием (Санкт-Петербург, 01-28 апреля 2024 г.) – Санкт-Петербург, 2024. – С. 362.

13. Липатов, В. А. Исследование реакции тканей печени на новые образцы полимерных кровоостанавливающих материалов / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // Хирургия и онкология: эксперимент и клиника : сборник научных трудов и материалов научно-практической конференции с международным участием «Эксперимент в хирургии и онкологии» (Курск, 23 сентября 2019 г.). – Курск, 2019. – С. 34–36.

14. Липатов, В. А. Исследование реакции тканей печени на новые образцы полимерных кровоостанавливающих материалов / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // Хирургия и онкология: эксперимент и клиника : сборник научных трудов и материалов научно-практической конференции с международным участием (Курск, 28 февраля 2020 г.). – Курск, 2020. – С. 14–16.

15. Липатов, В. А. Исследование физических и химических свойств губчатых аппликационных гемостатических материалов / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // Медицина экстремальных ситуаций. – 2020. – Т. 22, № 2. – С. 214–222.

16. Липатов, В. А. Оценка эффективности гемостатических материалов на основе карбоксиметилцеллюлозы в эксперименте / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // От фундаментальных знаний к тонкому владению скальпелем : сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого (Святителя Луки, архиепископа Симферопольского и Крымского), (Курск, 03-04 октября 2019 г.) / под редакцией В. А. Лазаренко. – Курск, 2019. – С. 67–70.

17. Моделирование травм при исследовании губчатых аппликационных гемостатических имплантов в эксперименте *in vivo* / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, А. Р. Саакян // Забайкальский медицинский вестник. – 2019. – № 1. – С. 155–166.

18. Оценка влияния гемостатических материалов на образование сгустка крови в эксперименте *in vitro* / В. А. Липатов, В. П. Гаврилюк, В. В. Похожай, С. В. Лазаренко [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – № 4. – С. 49–55.

19. Оценка гемостатической активности многокомпонентных полимерных губчатых имплантатов в эксперименте *in vitro* / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов [и др.] // Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н. В. Склифосовского – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 241–246. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-2-241-246>.

20. Оценка кровоостанавливающей активности локальных губчатых аппликационных гемостатических имплантов на основе производных целлюлозы в эксперименте *in vitro* / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, К. А. Сотников [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 45–52.

21. Оценка спаечного процесса после травмы печени в хроническом опыте / В. П. Гаврилюк, В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 212–225.

22. Оценка эксплуатационных свойств губчатых аппликационных гемостатических материалов *in vitro* (обзор) / Д. А. Северинов, С. В. Лазаренко, К. А. Сотников [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2020. – Т.12, № 1. – С. 139–149.

23. Разработка способа сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro* / В. А. Лазаренко, В. А. Липатов, А. А. Нетяга, С. В. Лазаренко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 1. – С. 29. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28511> (дата обращения: 13.06.2024).

24. Сравнительное изучение концентрации гидроксипролина в перипротезной капсуле после подкожной имплантации губчатых кровоостанавливающих средств в хроническом эксперименте *in vivo* / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, А. В. Иванов [и др.] // Актуальные проблемы медицины. – 2025. – Т. 48, № 1. – С. 97-110. – DOI 10.52575/2687-0940-2025-48-1-97-110.

25. Сравнительный анализ эффективности новых образцов местных гемостатических средств / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. – 2023. – № 4. – С. 131–136.

26. Установление структурных особенностей кровоостанавливающих имплантов на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы с помощью световой микроскопии / В. А. Липатов, Н. Н. Григорьев, С. В. Лазаренко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6. – С. 83. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28315> (дата обращения: 13.06.2024).

ПАТЕНТЫ

1. Патент № 184617, Российская Федерация, МПК А61В 17/66 (2006.01), G01N 3/00 (2006.01). Устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов : № 2018124409 : заявл. 03.07.2018 : опубл. 01.11.2018 / В. А. Лазаренко, В. А. Липатов, С. В. Лазаренко [и др.] ; заявитель «Курский государственный медицинский университет». – 6 с.

2. Патент № 2700165, Российская Федерация, МПК G01N 33/86 (2006.01). Способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro* : № 2018125364 : заявл. 10.07.2018 : опубл. 13.09.2019 / В. А. Лазаренко, В. А. Липатов, А. А. Нетяга, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, К. А. Сотников ; заявитель «Курский государственный медицинский университет». – 8 с.

3. Евразийский патент № ЕА 042177 В1, МПК А61В 34/10 (2016.01). Способ лапароскопического моделирования рваной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов : № 202000200 : заявл. 26.06.2020 : опубл. 20.01.2023 (БИ № 1) / В. А. Лазаренко, В. А. Липатов, В. П. Гаврилюк, Д. А. Северинов, М. А. Долженков, С. В. Лазаренко ; заявитель «Курский государственный медицинский университет». – 3 с.

4. Патент № 2821761, Российская Федерация, МПК G01N 33/86. Способ определения влияния кровоостанавливающих средств на образование сгустка крови : № 2023123665 : заявл. 13.09.2023 : опубл. 26.06.2024 / В.А. Липатов, С.В. Лазаренко, Д.А. Северинов, Е.А. Шкурат, О.В. Падалкина ; заявитель «Курский государственный медицинский университет». – 6 с.

5. Патент № 2836134, Российская Федерация, МПК А61К 38/39 (2006.01), А61L 15/28 (2006.01), А61L 15/32 (2006.01), А61Р 7/04 (2006.01) Губка кровоостанавливающая комбинированная : № 2023123284 : заявл. 07.09.2023 : опубл. 11.03.2025 / Липатов В. А., Денисов А. А., Кудрявцева Т. Н., Ванина А. С., Лазаренко С. В., Грехнева Е. В., Северинов Д. А., Кондакова П. Д., Сычев А. В., Сорока В. В. ; заявитель «Курский государственный медицинский университет». – 7 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ- аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АЭ - ангиоэмболизация

ВЛС – видеолапароскопия

ГКГ – губка коллагеновая гемостатическая

ГПКС – губчатое полимерное кровоостанавливающее средство

ДВС-синдром – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ДТП – дорожно-транспортные происшествия

ЗППО – закрытое повреждение паренхиматозных органов

КВМ – коэффициент выбора метода хирургического лечения

КГМУ – Курский государственный медицинский университет

КДЛ – контрольно-динамическая лапароскопия

КИ – клеточный индекс

ОДС – остаточная деформация сжатия

ПГА – полигликолидная нить

СПБП – спаечный процесс брюшной полости

СЭМ – сканирующий электронный микроскоп

Na-КМЦ – натрий-карбоксиметилцеллюлоза