

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Лазаренко Сергей Викторович

**РАЗРАБОТКА И КОНЦЕПЦИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ
ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ
ПАРЕНХИМАТОЗНОМ КРОВОТЕЧЕНИИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.9. Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор
Липатов Вячеслав Александрович

Воронеж – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ТРАВМЫ ПЕЧЕНИ И МЕТОДЫ ОСТАНОВКИ ПАРЕНХИМАТОЗНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	19
1.1. Результаты частотного и контент-анализа современного состояния проблем, ассоциированных с травмами печени и операциями на ней в аспекте остановки кровотечения	19
1.2. Семиотика и диагностика травмы печени	23
1.3. Интраоперационные способы остановки кровотечений при травме печени	30
1.4. Местные гемостатики в хирургии паренхиматозных органов	34
1.5. Коллагенсодержащие кровоостанавливающие средства	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1. Материалы исследования	45
2.1.1. Характеристика исследуемого материала	45
2.2. Дизайн исследования	48
2.3. Распределение материала по группам исследования и последовательность выполнения экспериментов	51
2.4. Методы исследования	53
2.4.1. Опрос врачей-хирургов об использовании гемостатических полимерных кровоостанавливающих средств	53
2.4.2. Изучение физико-механических характеристик гемостатических швов при операциях на печени	53
2.4.3. Методы исследования физико-механических и химических свойств исследуемых образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	56
2.4.4. Методы исследования структуры губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	61

2.4.5. Методы исследования влияния образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств на время свертывания крови в эксперименте <i>in vitro</i>	61
2.4.6. Методика изучения эффективности образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств в остром эксперименте <i>in vivo</i>	63
2.4.7. Методы исследования реакции организма на подкожное размещение образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	65
2.4.8. Методы исследования реакции тканей печени на размещение губчатых полимерных кровоостанавливающих средств при различных вариантах травмы в хроническом эксперименте <i>in vivo</i>	70
2.4.9. Методы математической и статистической обработки результатов исследования	77
ГЛАВА 3. АКТУАЛИЗАЦИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ	79
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ШОВНОГО МАТЕРИАЛА	89
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ	93
5.1. Результаты измерения остаточной деформации после сжатия образцов	93
5.2. Результаты измерения сорбционных свойств исследуемых образцов	99
5.3. Результаты изучения полной пористости образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	101
5.4. Результаты изучения кислотности образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	103
5.5. Результаты исследования силы адгезии образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств к брюшине	105
5.4. Результаты исследования структуры образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств	108

ГЛАВА	6.	РЕЗУЛЬТАТЫ	ИССЛЕДОВАНИЯ	
КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ		АКТИВНОСТИ	ИЗУЧАЕМЫХ	
ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ				
СРЕДСТВ				115
6.1. Результаты исследования влияния тестируемых образцов на время				
свертывания	крови	в	эксперименте	in
vitro.....				115
6.2. Результаты исследования эффективности образцов губчатых				
полимерных кровоостанавливающих средств в остром эксперименте in vivo ..				116
ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ НА				
ПОДКОЖНОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ				
КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ				118
7.1. Гистологическая картина изменений в зоне размещения образцов				
губчатых полимерных кровоостанавливающих средств				118
7.2. Уровень гидроксипролина в тканях из зоны размещения образцов				
губчатых полимерных кровоостанавливающих средств				157
ГЛАВА 8. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И				
БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ				
ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ В				
ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ				163
8.1. Клинические показатели лабораторных животных после моделирования				
травмы печени и применения образцов губчатых полимерных				
кровоостанавливающих средств.....				164
8.1.1. Показатели лабораторных тестов животных разных				
экспериментальных групп.....				164
8.1.2. Динамика макроморфологических изменений в области				
хирургического вмешательства по результатам КДЛ и аутопсии				170
8.2. Гистологическая характеристика реакции ткани печени на размещение				
губчатых полимерных кровоостанавливающих средств после моделирования				
травмы в эксперименте				184

8.2.1. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели травматической полости в толще средней доли печени	184
8.2.2. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели краевой раны правой доли печени.....	185
8.2.3. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели поверхностной раны левой доли печени	186
8.2.4. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели травматической полости в толще средней доли печени	186
8.2.5. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели краевой раны правой доли печени.....	188
8.2.6. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели поверхностной раны левой доли печени	188
8.2.7. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели травматической полости в толще средней доли печени	189
8.2.8. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели краевой раны правой доли печени.....	190
8.2.9. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели поверхностной раны левой доли печени	191
8.2.10. Результаты применения образцов губки коллагеновой гемостатической на модели травматической полости в толще средней доли печени	192
8.2.11. Результаты применения образцов губки коллагеновой гемостатической на модели краевой раны правой доли печени	193
8.2.12. Результаты применения образцов губки коллагеновой гемостатической на модели поверхностной раны левой доли печени	194
8.2.13. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели травматической полости в толще средней доли печени	194
8.2.14. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели краевой раны правой доли печени	195

8.2.15. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели поверхностной раны левой доли печени	196
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	199
ВЫВОДЫ	215
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	218
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	219
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	223
ПРИЛОЖЕНИЯ	253
ПРИЛОЖЕНИЕ А. РОЛЬ МЕСТНЫХ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ В ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ОСТАНОВКЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ В ХИРУРГИИ XXI ВЕКА (анкета).....	253
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ИНФОРМИРОВАННОЕ ДОБРОВОЛЬНОЕ СОГЛАСИЕ.....	257
ПРИЛОЖЕНИЕ В. АКТЫ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИНТЕЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ, ПОЛУЧЕННОЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	258

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Повреждения паренхиматозных органов занимают ведущее место среди всех травм органов брюшной полости [3, 5], встречаясь в 25% случаев. Летальность при открытых повреждениях отмечается в 10% случаев, а при закрытых травмах в 65% случаев. Причиной высокой летальности в основном служит тяжелая кровопотеря [22, 60].

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 [48, 191].

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 [50, 243].

В целом проблема остановки паренхиматозных кровотечений содержит много нерешенных вопросов, что побуждает к поиску современных и малотравматичных способов достижения эффективного и надежного гемостаза [102, 134].

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 [74, 75, 184].

Спектр средств местного действия разнообразен и представлен множеством

видов губок, пленок, комбинированных имплантов на основе коллагена, желатина, окисленной целлюлозы, крахмала и пр. [89, 226]. 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 [71, 59, 237].

При сравнительной оценке и выборе гемостатических материалов рассматривают их безопасность, эффективность, удобство в использовании, стоимость, доступность и другие параметры [87, 224].

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 [85, 241].

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 [24, 46, 71, 72, 83, 91, 102, 103]. 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 [26, 28, 38, 95, 101]. 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 (Na-КМЦ). 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 применением 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 ЕА 042177 В1).

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. Использованы 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), гигроскопичность (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 одобренные 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 диссертации, 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, 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).

ГЛАВА 1. ТРАВМЫ ПЕЧЕНИ И МЕТОДЫ ОСТАНОВКИ ПАРЕНХИМАТОЗНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Для описания современного состояния проблем, ассоциированных с травмами печени и операциями на ней в аспекте остановки кровотечения и основных направлений текущих исследований в этой области, выполнен частотный анализ и контент-анализ по ключевым словам на русском и английском языках с использованием научных баз цитирования и электронных библиотек: Elibrary, Кокрановская библиотека, PubMed, Google Scholar. Глубина поиска статей в периодических изданиях была ограничена периодом с 2018 по 2023 годы. После проведения частотного и контент-анализа выполнен систематический обзор современной научной литературы и исследований, посвященных проблеме паренхиматозных кровотечений и разработке местных гемостатических средств среди научных баз – Elibrary, Кокрановская библиотека, КиберЛенинка, PubMed, Google Scholar, Scopus, Web of Science.

1.1. Результаты частотного и контент-анализа современного состояния проблем, ассоциированных с травмами печени и операциями на ней в аспекте остановки кровотечения

Проведя анализ публикационной активности за период с 2018 по 2023 годы в базах данных Elibrary, Кокрановская библиотека, PubMed, Google Scholar, можно заметить, что во всех базах наблюдается неравномерное распределение опубликованных статей по годам. В PubMed с 2018 года наблюдается увеличение числа исследований, а в 2020 году произошло существенное увеличение публикационной активности (70882 статьи) с продолжающимся ее ростом в 2021 (75300) и 2022 (73846) годах. В Google Scholar мы видим пик активности в 2018 году (42383), а далее равномерное снижение числа статей по изучаемой теме.

Похожая ситуация наблюдается и в Elibrary (пик числа публикаций в 2018 (10991) и незначительное снижение после 2020 года). В Кокрановской библиотеке абсолютная стабильность – уровень исследований с 2018 по 2023 годы не выходит за рамки 7 тысяч публикаций ежегодно. При этом следует отметить, что в базе данных PubMed и Google Scholar публикаций гораздо больше, чем в остальных базах. Можно предположить, что такая большая разница в количестве публикаций связана с включением в базу большого количества документов. (Рисунок 1).

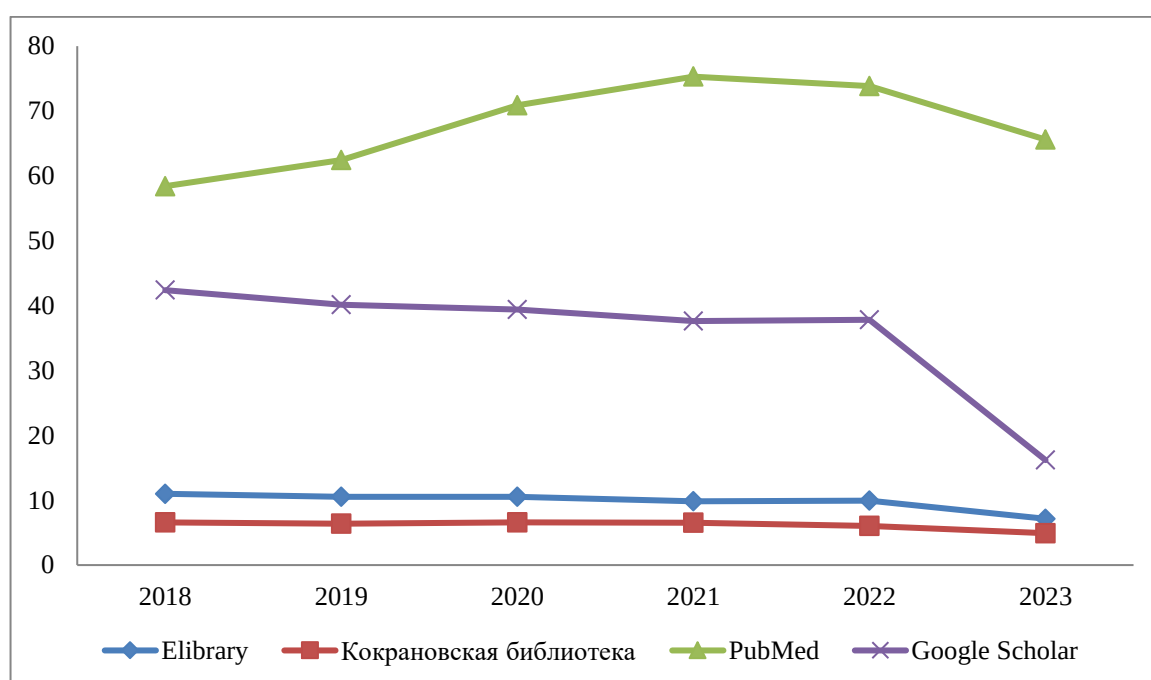


Рисунок 1 – Динамика изменения количества публикаций на основе поисковых запросов по ключевым словам по базам научных данных

В структуре библиографии прежде всего вызывает интерес то, что наиболее часто встречаются публикации, в список ключевых слов которых входит «кровотечение» (241109). Тем временем наименьшее внимание исследователи уделяют изучению морского (5481) и рыбного (2635) коллагена. При этом публикации по различным видам коллагена наиболее часто встречались в Elibrary и Google Scholar.

Публикаций по изучению порошков обнаружено почти в два раза больше, чем по изучению губок, так как порошок – более популярная лекарственная форма,

чем губка. При этом для увеличения релевантности данных показателей, отсекация статей, не имеющих даже косвенного отношения к медицине, в Elibrary был выставлен фильтр «клиническая медицина». Среди материалов наиболее популярным является коллаген (103728), далее в порядке убывания идут крахмал (75154), хитозан (43173), желатин (32704), цеолиты (24184) (Рисунок 2).

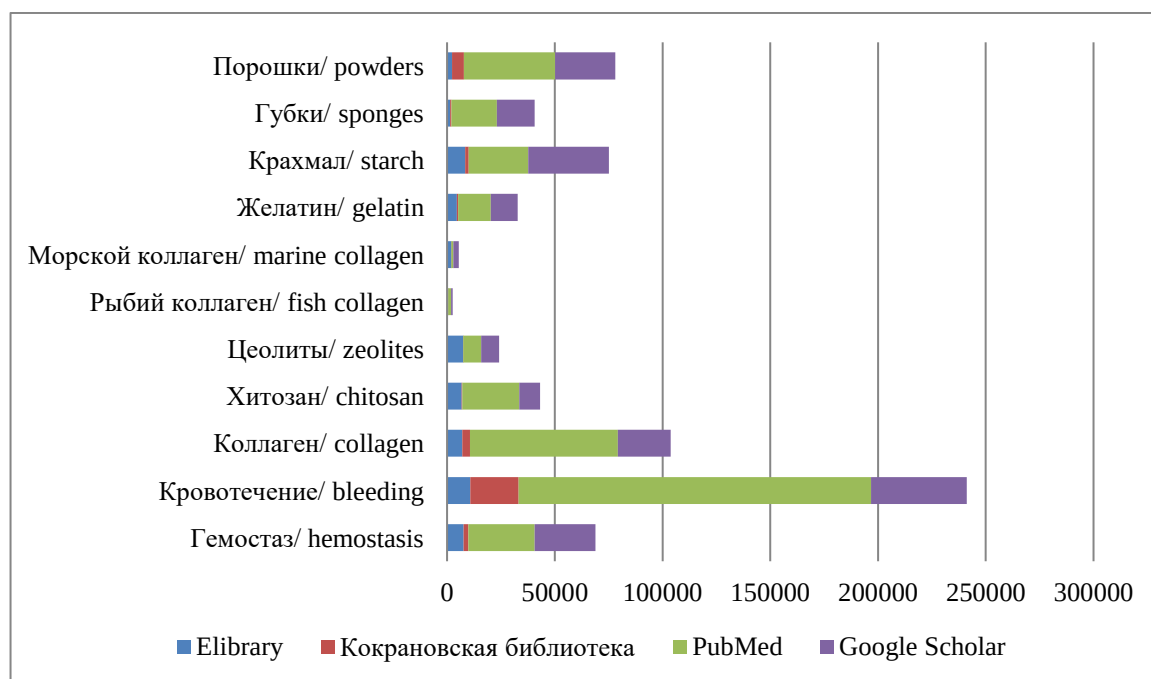


Рисунок 2 – Диаграмма распределения числа статей по поисковым запросам на основании ключевых слов на тему лекарственных гемостатических средств по базам научных данных

Далее проведен анализ по ключевым словосочетаниям, которые позволяют получить более релевантные результаты. На графиках наибольшее число публикаций характерно для PubMed, включающей максимальное количество иностранных исследований. Пик активности по совершенным потоковым запросам в данной базе данных наблюдается в 2021 году (13132). При этом в Google Scholar наибольшая активность была в 2018 году (9502), а затем последовал постепенный спад: так, в 2022 году было всего 8505 публикаций. В Elibrary большое количество исследований опубликовали в 2018 (7232) и 2020 (7012) годах, с 2021 года наблюдается динамика к снижению количества публикаций (4628).

Как и в случае с ключевыми словами, в Кокрановской библиотеке уровень

исследований с 2018 по 2023 годы не выходит за рамки 400 публикаций ежегодно (Рисунок 3).

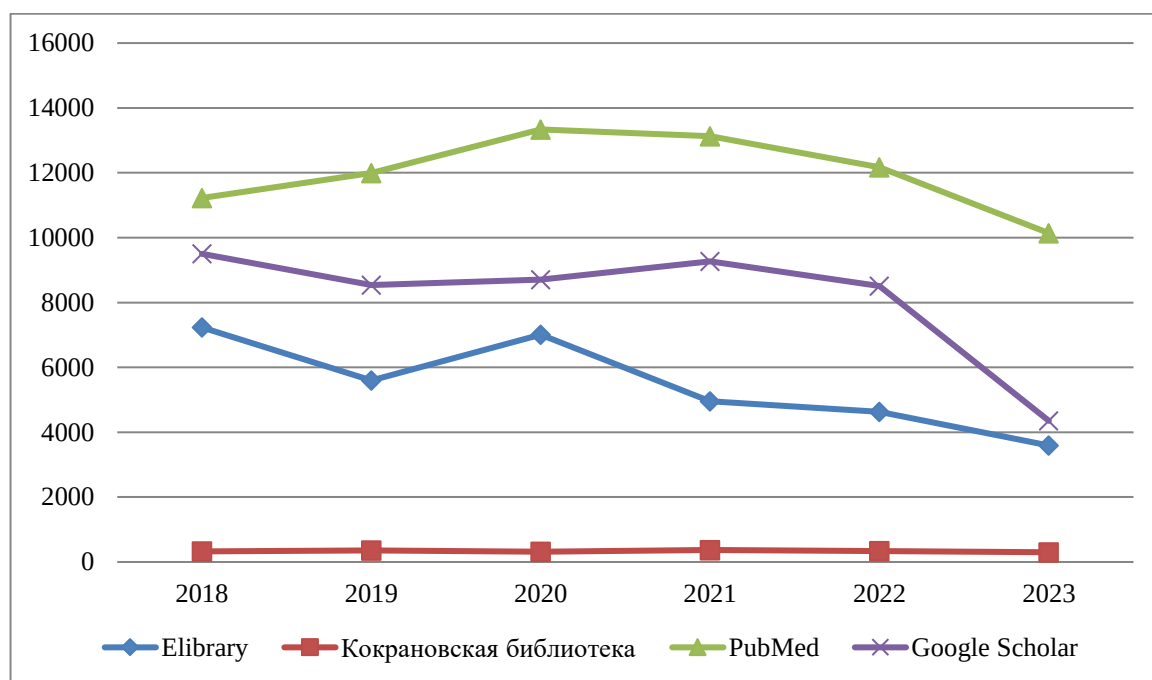


Рисунок 3 – Динамика изменения количества публикаций на основе поисковых запросов по ключевым словосочетаниям по базам научных данных

Наиболее часто встречаются словосочетания «гемостатические средства» (42346) и «активация гемостаза» (24905). Наименьшее число исследований опубликовано со словосочетанием «гемостатические аппликационные импланты» (643).

Количество публикаций, посвященных остановке кровотечений при операциях на печени (15017), оказалось в несколько раз больше, чем по остановке кровотечений из паренхиматозных органов (2594). При этом об остановке кровотечений печени при повреждениях активнее публиковались статьи в Google Scholar. Ниже представлено распределение публикаций в базах за 2018-2023 гг. по ключевым словосочетаниям (Рисунок 4).

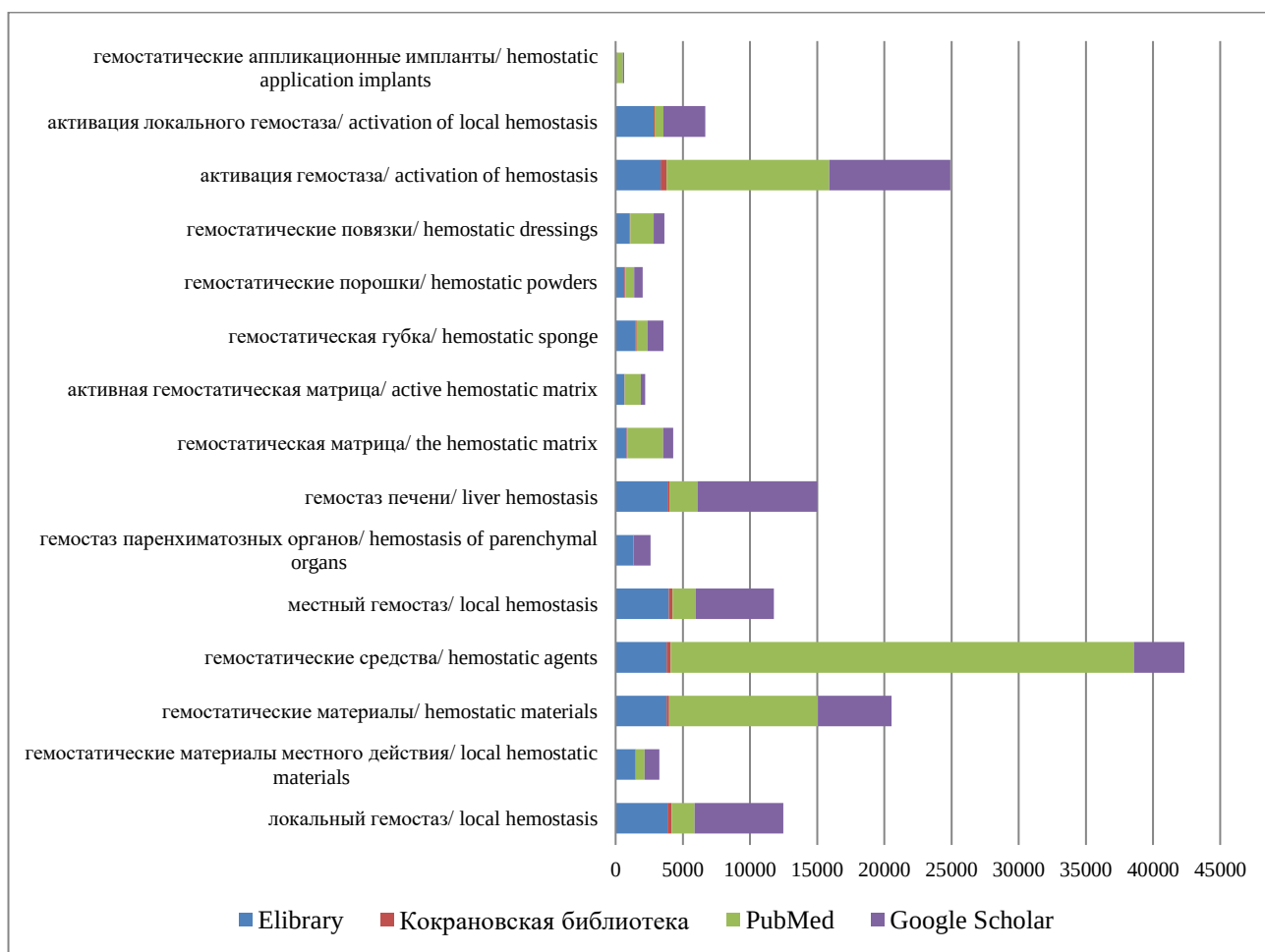


Рисунок 4 – Распределение числа статей по поисковым запросам на основании ключевых словосочетаний на тему лекарственных гемостатических средств по базам научных данных

Можно сделать вывод, что принципиальных качественных различий между русскоязычными и зарубежными базами нет. В русскоязычных статьях и научных коллективах не ослабевает и далее динамично растет интерес к рассматриваемой проблеме.

1.2. Семиотика и диагностика травмы печени

При травме живота закрытое повреждение паренхиматозных органов (ЗППО) с внутрибрюшным кровотечением занимает второе место среди всех повреждений органов брюшной полости. Продолжающееся кровотечение, в свою очередь, влечет за собой нарушения гомеостаза и расстройство жизненно важных функций

организма [73]. Частота повреждений печени при закрытой травме живота колеблется от 20 до 46,9%, при проникающих ранениях – от 57 до 86,4% [58].

Анатомо-физиологические особенности паренхиматозных органов, такие как значительные величина и масса, обусловленные полнокровием органа и преобладанием паренхиматозного компонента над стромальным, близость к позвоночному столбу и ребрам, низкая подвижность ввиду развитого связочного аппарата, предрасполагают к их повреждению и обуславливают высокую вероятность развития массивного внутрибрюшного кровотечения в результате травмы [50, 73]. В связи с этим различные варианты травматического повреждения печени по тяжести течения, сложности диагностики и лечения считаются наиболее опасными среди повреждений органов брюшной полости, так как являются причиной высокой летальности [111]. По данным литературы, послеоперационная летальность при ЗППО, в частности печени, составляет 30,4%, при колото-резаных ранениях органа – от 4 до 10,5%, при сочетанной травме погибает 39,3% пострадавших [58, 74]. Также существует статистика относительно сроков оказания помощи пациентам с травмой печени: чем меньше сроки дооперационной подготовки и транспортировки, тем выше вероятность благоприятного прогноза для жизни пациента. Важную роль играет и характер повреждения органа: колотое или резаное ранение, разрыв, размозжение и пр. [160].

Типичным механизмом повреждения печени является сдавление между окружающими ее сбоку и сзади ребрами и позвоночником. Так, при дорожно-транспортных происшествиях (ДТП), как правило, происходит резкое торможение, что в результате приводит к возникновению сил сдвига в области связочного аппарата печени, а внезапное повышение давления в системе нижней полой или воротной вены за счет перераспределения кровотока на внутриорганные сосуды – к «внутрипеченочному взрыву» [57]. Опосредованное повреждение печени возможно при повреждениях грудной клетки, преимущественно правой ее половины. Быстрое повышение давления в правой плевральной полости (напряженный пневмо/гидро/гемоторакс) может приводить к повреждению диафрагмальной поверхности печени [45, 48].

Поскольку элементы портальной триады находятся в плотной фиброзной капсуле, предотвращающей их повреждение, разрывы печени чаще всего направлены параллельно портальным щелям или локализуются непосредственно в них [57]. Повреждение печеночных вен и их притоков встречается чаще, так как они, в отличие от элементов триады, не имеют плотной фиброзной капсулы. Более чем в 80% случаев повреждения печени располагаются в правой доле (более массивной), а именно в VI-VIII сегментах [2, 82].

Российскими авторами разработаны несколько классификаций повреждений печени, которые локально применяются в различных хирургических центрах, оказывающих помощь наиболее тяжелой категории пациентов с политравмой, в том числе пострадавшим в ходе вооруженных конфликтов военным [67, 160]. Современные отечественные и зарубежные клиницисты ориентируются на классификацию травм паренхиматозных органов (Organ Injury Scaling, раздел, касающийся травмы печени), принятую в 1994 году Американской ассоциацией хирургов и травматологов (American Association for the Surgery of Trauma, сокр. AAST), дополненную сокращенной шкалой повреждений Abbreviated Injury Scale (AIS) от 1971 года, как метод количественной оценки и сравнения различных типов повреждений паренхиматозных органов [183]. Organ Injury Scaling подвергается довольно частым пересмотрам при заседании комитета AAST. В редакции от 2018 года, помимо используемых ранее критериев диагностики на основе компьютерной томографии (КТ), введены показания для оперативного лечения и описание интраоперационной картины, что в значительной мере способствует правильному выбору тактики (оперативное или консервативное лечение) в каждом конкретном случае [141] (Таблица 1).

Таблица 1 – Классификация повреждений печени Organ Injury Scaling

Степень	Вид повреждения	Повреждения при КТ
I	Гематома	Подкапсульная, <10% площади поверхности
	Разрыв	Капсулы или паренхимы глубиной <1 см
II	Гематома	Подкапсульная от 10 до 50% площади поверхности, центральная <10 см в диаметре
	Разрыв	Глубиной от 1 до 3 см, длиной <10 см
III	Гематома	Подкапсульная >50% площади поверхности, подкапсульная или центральная с разрывом, центральная >10 см в диаметре
	Разрыв	Глубиной >3 см
IV	Разрыв	Занимающий от 25 до 75% доли печени или 1-3 сегмента по Couinaud в пределах одной доли
V	Разрыв	Занимающий >75% доли печени или >3 сегментов по Couinaud в пределах одной доли
	Сосудистые	Разрывы юктагепатических сосудов, например ретрогепатического отдела нижней полой вены или печеночных вен
VI	Сосудистые	Отрыв печени от сосудистой ножки
Примечание. При множественных повреждениях печени прибавляют одну степень, но не выше III степени		

Известны клинические случаи, когда степень тяжести повреждения по шкале AAST не соответствует клиническому статусу пострадавшего [79, 96]. В последние тридцать лет, благодаря совершенствованию диагностических методик и аппаратов, а также средств лечения, отмечается существенное изменение алгоритма ведения травм печени со значимым улучшением исходов, особенно при закрытых механических травмах [13, 31, 32]. В процессе принятия решения о выборе оптимальной тактики вместе с определением степени тяжести по классификации AAST необходимо оценить гемодинамический статус пациента и сочетанные повреждения [67, 77]. В связи с этим была разработана классификация, принятая Всемирным обществом неотложной хирургии (World Society of Emergency Surgery, сокр. WSES), которая делит повреждения печени на четыре класса с учетом классификации AAST-OIS и гемодинамического статуса: незначительная (первая степень), травма средней степени тяжести (вторая степень),

тяжелая (III и IV степени). Согласно данным Cocolini F. et al. большинство пациентов, госпитализированных в хирургический стационар по поводу травмы печени, имеют повреждения легкой или средней степени тяжести (по классификациям WSES и AAST-OIS I, II, реже III ст.) и не требуют оперативного лечения. Однако только треть травм печени тяжелой степени (WSES и AAST-OIS IV, V ст.) [135, 184]. Решение о тактике лечения (консервативном или оперативном) основывается главным образом на гемодинамическом статусе пациента, сопутствующих травмах, степени морфологии и локализации повреждения органа. Основываясь на указанных подходах, WSES предлагает два алгоритма ведения пациентов с травмой печени: общий и специально предназначенный для пациентов с нестабильной гемодинамикой [183, 185].

Существует также классификация пострадавших с травмой паренхиматозных органов, основанная на срочности и необходимости выполнения оперативного пособия (фактически представляет собой этап медицинской сортировки и эвакуации при большом количестве потерпевших), включающая три группы пациентов, нуждающихся в немедленной лапаротомии, дополнительном обследовании, дальнейшем наблюдении без дополнительного обследования [57]. В зависимости от показателей гемодинамики пациент с ЗППО сразу после госпитализации должен быть отнесен к одной из указанных групп, что обеспечит своевременное оказание помощи [111].

Стоит отметить, что объем обследования пациента с ЗППО зависит от предполагаемого диагноза, тяжести состояния и, что немаловажно, технической оснащенности стационара [82, 186]. Начиная с клинического осмотра пациента, формируется дальнейший алгоритм действий, основанных на данных физикального осмотра. Нередко затрудняют постановку диагноза тяжесть состояния пациента, бессознательное состояние, наличие сопутствующих травм костной системы, иных органов и систем. Все описанное также фактически не дает времени на длительное обследование [127]. При осмотре пациентов с подозрением на ЗППО важно оценивать гемодинамический статус, а также наличие видимых следов травмы в проекции органов (в случае печени – правое подреберье и реберная дуга), здесь

могут определяться очаги ушибов мягких тканей, ссадины и пр. [108].

Поэтому пациентам, пострадавшим в результате ДТП, при падении с высоты, в результате боевых действий – когда имеют место воздействие нескольких механических факторов, целесообразно в экстренном порядке выполнение такого клинического минимума лабораторно-инструментального обследования, как общий анализ крови (ОАК) (для расчета степени кровопотери по уровню гематокрита) и ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной и грудной полости [84, 98]. Причем УЗИ выполняется согласно так называемому FAST-протоколу (от англ. *focused abdominal sonography for trauma*, или *focused assessment with sonography in trauma* – оценка состояния брюшной полости при травме), который обязан уметь выполнить врач-хирург без привлечения иных специалистов для экономии времени обследования пациента [184].

FAST-протокол в обязательном порядке включает осмотр отлогих мест брюшной полости (поддиафрагмального пространства, печеночно-почечного и селезеночно-почечного углублений, обоих латеральных каналов и области малого таза), где может скапливаться жидкость [111, 245]. Также УЗИ позволяет рассчитать примерный объем жидкости (крови) в брюшной полости. При незначительных объемах крови в брюшной полости (до 500 мл) целесообразно выполнение контрольных УЗ-исследований каждые 2-3 часа при стабильных показателях гемодинамики. Евтихов А.В. и соавт. рекомендуют прибегать к экстренной лапароскопии в случае нарастания объема крови в брюшной полости со скоростью 200-500 мл/ч (по данным УЗИ), более 500 мл/ч – необходима лапаротомия в экстренном порядке [13]. Пострадавшим с клинико-лабораторной картиной продолжающегося внутрибрюшного кровотечения (жидкость в брюшной полости более 500 мл по данным FAST, падение артериального давления, признаки анемии в ОАК) показана экстренная лапаротомия для определения источника кровотечения и его остановки доступными способами [82].

Учитывая техническое оснащение клиники, возможно выполнение КТ пациентам с подозрением на ЗППО. КТ является главным «конкурентом» УЗИ, особенно в случае дополненного болюсным контрастированием (характерным

признаком продолжающегося кровотечения является наличие контрастного вещества в брюшной полости или паренхиме печени, т. е. вне сосудистого русла), и имеет большую информативность и специфичность при повреждениях паренхиматозных органов, а также позволяет в режиме реального времени оценить необходимость экстренного оперативного вмешательства. Поэтому уже с окончания XX века КТ считается «золотым стандартом» диагностики при абдоминальной травме [79].

В некоторых менее оснащенных стационарах (зачастую это районные центры) в качестве метода обнаружения свободной жидкости в брюшной полости применяется такой довольно исторический метод, как лапароцентез. Использование лапароцентеза несколько ограничено в современной хирургии повреждений паренхиматозных органов ввиду риска травмирования иных структур, расположенных в брюшной полости, и, как следствие, ее инфицирования [82]. Но не стоит исключать лапароцентез полностью из диагностического алгоритма, так как при нестабильной гемодинамике у пациента с сочетанной травмой, затруднении визуализации при УЗИ и невозможности выполнения КТ методом выбора является именно данная манипуляция, позволяющая оценить наличие и характер выпота/жидкости в брюшной полости (причем не только посредством макроскопической оценки, но и микроскопического исследования) [84].

Отдельно стоит отметить такой метод инвазивной диагностики, как видеолапароскопия (ВЛС). В условиях дефицита времени и при стабильных показателях гемодинамики минимально инвазивным методом выбора является ВЛС, причем данный вариант обследования может быть переведен в лечебный этап [42, 69]. Возможно завершение оперативного вмешательства как лапароскопическим способом, так и конверсией, в зависимости от обширности и характера повреждения органа, навыков и опыта оперирующего хирурга [73]. Место ВЛС в диагностике ЗППО достаточно ограничено и является довольно редким вариантом обследования, так как важным критерием оказания помощи выступает минимальная инвазивность и отсутствие вмешательства при малых

объемах кровопотери [232].

1.3. Интраоперационные способы остановки кровотечений при травме печени

Несмотря на значительные технические достижения в разработке современных методик миниинвазивных методов лечения и выполнения оперативных вмешательств, остается низкой доступность данных методов для населения, так как высокотехнологичное оборудование концентрируется в федеральных центрах, что делает его недоступным региональным специалистам и, соответственно, пострадавшим. В связи с этим в настоящее время оказание экстренной хирургической помощи пострадавшим с ЗППО в большинстве случаев все же сводится к экстренной лапаротомии. При этом лапаротомия рассматривается не только как диагностическая манипуляция, но и как оперативный доступ для коррекции поврежденных органов [101, 198].

Тем не менее, хирургу доступен значительный арсенал интраоперационных способов остановки кровотечения различной технической сложности, которые представлены ниже (Таблица 2). Использование указанных методик имеет строго ограниченные показания, причем в каждом конкретном случае выбор способа остановки кровотечения определяется интраоперационно индивидуально для данного пациента, поэтому целесообразно рассмотреть различные клинические сценарии.

Таблица 2 – Классификация способов остановки кровотечения при ЗППО (по Липатову В.А., 2020 г.)

Группа методов	Наименование способа и годы первого упоминания о применении
Механические	перевязка сосудов на протяжении (Джон Гунтер, 1785 г.)
	наложение зажима в ране (Пean Э., 1862 г.)
	наложение сосудистого шва (Каррель А., 1902 г.)
	баллонно-компрессионный метод (Morimoto et al., 1987 г.)
Термические	электрокоагуляция (Шамраевский С.М., 1935 г.)
	аргоноплазменная коагуляция (кампания ERBE, 1996 г.)
	ультразвуковая коагуляция (Ткаченко С.С., 1972 г.)
Химические	применение химических веществ, обладающих кровоостанавливающей активностью (хлористый кальций, дицинон, адреналин, питуитрин, эпсилон-аминокапроновая кислота (вторая половина XX в.)
Биологические	тампонада биологическими аутоканьями/аллотканьями
	местное применение производных крови (тромбин, фибриновая пленка и пр.) (30-е годы XX в.)
	применение местных синтетических гемостатиков (коллагеновая пластина «Тахокомб», гемостатическая губка и пр.) (конец XX в.)

Так, в наиболее тяжелых случаях у пациентов с травмой печени IV и V степени и при нестабильной гемодинамике применяется концепция этапного лечения (Damage Control Surgery), которая включает временную остановку кровотечения – тампони́рование печени, а затем последующую релапаротомию для выполнения окончательной остановки кровотечения [82]. Решение о тампонаде печени должно быть принято как можно раньше, например, сразу после ревизии брюшной полости и оценки объема кровопотери, состояния травмированного органа. Тампонада, начатая после возникновения ДВС-синдрома, имеет гораздо меньше шансов на успех. Основными минусами данного подхода является рецидив внутрибрюшного кровотечения, которое отмечается в 16,7-45,5% случаев, а также желчеистечение по дренажам или желчный перитонит в 72,7%. Практически в 50% наблюдений после тампонады печени в связи с развитием послеоперационных

осложнений возникает необходимость в последующих многократных оперативных вмешательствах [135]. При этом остается высоким показатель летальности у таких пациентов.

Если тугая тампонада печени не имеет эффекта, кровотечение не останавливается, то тампоны немедленно удаляют. У оперирующего хирурга остается всего несколько вариантов (которые используются в крайних случаях, так как высокотравматичны): обнаружение источника кровотечения по методу Finger Fracture Technique, не снимая турникета с гепатодуоденальной связки (комбинированный прием Прингла); сосудистая изоляция печени, которая осуществляется за счет торакофренолапаротомии и выделения нижней полой вены выше и ниже печени, что приближает летальность к 80% случаев; выполнение атриокавального шунтирования (количество успешных операций составляет всего около 20%) [57].

Чарышкин А.Л. и Гафиуллов М.Р. разработали в эксперименте способ ушивания ран паренхиматозных органов (печени и селезенки) для достижения эффективной интраоперационной остановки кровотечения (Патент РФ № 2459589), который апробировали в клинической практике. Особенность предложенного способа заключается в наложении глубоких и поверхностных П-образных швов, перекрещивающихся между собой через середины расстояний между выколами. Благодаря взаимоперекрещивающимся нитям, снижается риск прорезывания швов и отмечена высокая эффективность метода при глубоких и протяженных повреждениях печени [93].

При обширных повреждениях печени (со значительным диастазом краев или эффектом минус-ткань) свести края разрыва посредством наложения П-образных швов не представляется возможным, а остаточная полость в паренхиме быстро заполняется кровью, желчью с последующим формированием гематомы, биломы или абсцесса. Поэтому для предотвращения развития столь опасных осложнений заполняют подобную полость прядью большого сальника на питающей ножке, выкраивая ее таким образом, чтобы она заполняла основной объем полости, после чего края разрыва печени сближают вертикальными П-образными швами [57].

В некоторых случаях, когда тампонада сальником не приносит эффекта, прибегают к выполнению гепатопексии (передней по Хиари-Алферову-Николаеву или задней по В.С. Шапкину) в зависимости от локализации повреждения. Суть данной методики заключается в прикрытии зоны повреждения печени листком париетальной брюшины. Недостатком метода являются травматичность и необходимость релапаротомии для контроля остановки кровотечения [90, 91].

При травме I-III степени по OIS развивается паренхиматозное кровотечение, которое возможно купировать с использованием бесшовных методов: физических (аргоноплазменная коагуляция или электрокоагуляция, компрессия тупфером или тампоном, пропитанным горячим изотоническим раствором хлорида натрия) или химических (аппликация местных кровоостанавливающих средств) [9, 62]. В случае подкапсульной гематомы печени (II или III степень по OIS) отмечается высокая вероятность развития разрыва паренхимы, что может послужить причиной интенсивного внутрибрюшного кровотечения, в связи с чем целесообразно вскрыть капсулу печени над гематомой во время первичного вмешательства и остановить кровотечение одним из доступных методов. После этого следует укрыть декапсулированный участок печени ГПКС. По мнению Эргашева О.Н. и Дундарова З.А., при поверхностных ранениях I ст. без признаков массивного кровотечения достаточно обработать кровоточащую поверхность органа с помощью аргоноплазменной коагуляции. Небольшие кровоточащие раны печени (размером 0,5-1 см) II ст. рекомендуется ушить на всю глубину гемостатическими П-образными швами с тампонированием раны прядью сальника [12, 67].

Осложнения, развивающиеся в раннем послеоперационном периоде и при консервативном лечении травмы печени, зависят от тяжести травматического повреждения органа и встречаются одинаково часто. Они представлены повторным внутрибрюшным кровотечением, внутрипеченочной гематомой, ложными артериальными и венозными аневризмами, гемобилией, желчным свищом, билемой, внутрипеченочным абсцессом [57].

Грошилин В.С., Чубарян К.А. разработали способ (Патент РФ № 2791246) [58] для выбора хирургического метода лечения конкретного пациента

с травматическим повреждением печени. Данный способ основан на математическом расчете коэффициента выбора метода хирургического лечения (КВМ), который складывается из суммы показателей гемодинамического статуса пострадавшего (ПГС), степени повреждения печени (ПСПП), объема кровопотери (ПОК), характера травмы (ПХТ), сопутствующих заболеваний печени (ПСЗП) и интенсивности гипокоагуляции (ПИГ):

$$\text{КВМ} = 0,9\text{ПГС} + 0,95\text{ПСПП} + 0,6\text{ПОК} + 0,24\text{ПХТ} + 0,4\text{ПСЗП} + 0,65\text{ПИГ}$$

Если $2,69 \leq \text{КВМ} \leq 3,57$, методом хирургического лечения травматических повреждений печени авторы рекомендуют выбирать электрокоагуляцию, при $3,57 < \text{КВМ} < 7,28$ – ушивание печени, а при $7,28 \leq \text{КВМ} \leq 10,57$ – тампонаду.

1.4. Местные гемостатики в хирургии паренхиматозных органов

Современные ГПКС составляют довольно широкий спектр изделий медицинского назначения. Однако современными их можно назвать условно, так как препараты, которые начали применять в последние годы для остановки кровотечения в хирургической практике, известны со второй половины XX века, например, факторы свертывания (тромбин, фибрин), синтетические клеи и пр. [40, 96, 118].

Использование хирургами ГПКС при ликвидации кровотечения из паренхиматозных органов во время оперативного вмешательства связано как с удобством в использовании данных форм кровоостанавливающих средств, так и с их видоспецифическими особенностями [234, 115], а именно:

- необходимая по размеру часть губки легко отделяется (моделируется) от основной фабричной пластинки и помещается на раневую поверхность, что значительно экономит время хирургов;
- высокие адсорбционные свойства (за счет пористой структуры);
- возможность проведения местной терапии в области повреждения благодаря комбинированному действию (ГПКС может служить основой для нескольких лекарственных препаратов, не только ускоряющих остановку

кровотечения, но и обладающих антибактериальными и противовоспалительными эффектами);

- отсутствие необходимости в повторных оперативных вмешательствах за счет высокой степени деградации [68, 134].

Последнее свойство особенно важно, так как биodeградация способствует уменьшению продолжительности контакта структур органа с инородным объектом, что обеспечивает минимальную реакцию тканей на введение чужеродного макроорганизму агента. Необходимо добавить, что скорость биodeградации в той или иной степени можно контролировать добавлением к основному веществу ГПКС различных компонентов, обладающих необходимым исследователю эффектом [199, 203].

К сожалению, до настоящего времени накоплен незначительный опыт применения ГПКС, что, по мнению исследователей, может быть связано со следующими недостатками:

- не все образцы исследуемых материалов обладают достаточными адгезивными свойствами, что приводит к их смещению относительно травмированной поверхности органа и возобновлению кровотечения в раннем послеоперационном периоде [220];

- несовершенство форм выпуска, проявляющееся в отсутствии универсальности и, как следствие, отсутствии стандартных подходов к применению тех или иных форм в определенных интраоперационных условиях [74].

Примером служат трудности в использовании ГПКС в лапароскопической хирургии (нередко конструкция и их форма препятствуют введению в брюшную полость без нарушения полотна материала), а также в случае нанесения гемостатического порошка при сквозных ранениях печени [236]. Указанные недостатки служат основой для современных изысканий в области разработки ГПКС, удовлетворяющих высоким требованиям клиницистов [222].

ГПКС можно классифицировать по нескольким параметрам, отраженным ниже, которые определяют состав, область применения, механизм действия и др.

В зависимости от механизма действия: концентраторы факторов свертывания крови (впитывают жидкую часть крови, тем самым увеличивая концентрацию ее компонентов в месте повреждения), прокоагулянты (непосредственно участвуют в активации каскада свертывания крови) и мукоадгезивные агенты (обеспечивают физический барьер для кровотока путем сшивания компонентов крови) [147].

Согласно основе материала изготовления ГПКС могут быть сгруппированы в следующие категории: неорганические, полисахаридные, синтетические, биологические.

В свою очередь, местные кровоостанавливающие средства, широко применяемые в качестве дополнительного метода остановки кровотечения, подразделяют на три группы: абсорбирующие агенты, биологические агенты (ассоциированные с каскадом коагуляции) и синтетические клеи [41, 233].

ГПКС на основе неорганических соединений получают из природных минералов (например, QuikClot, WoundStat). Они обладают такими преимуществами, как богатый источник сырья для производства, низкая стоимость, пористая структура, сверхпоглощающая способность, но большинство из них не являются биodeградируемыми и должны быть удалены после применения [51]. Цеолиты – класс кристаллических микропористых минералов, состоят из четырехгранных блоков $[\text{SiO}_4]^{4-}$ и $[\text{AlO}_4]^{5-}$ с общим углом. Такие каркасные структуры обладают большой площадью поверхности и высокой пористостью, гемостатический эффект достигается путем повышения концентрации факторов свертывания крови в зоне повреждения [125, 229].

КС на основе полисахаридов, состоящие из натуральных углеводов, привлекательны для исследователей из-за их биоабсорбируемых свойств и низкой стоимости. Полисахариды – форма, в которой встречается большинство природных углеводов, имеют разветвленную или линейную молекулярную структуру [118]. Благодаря хорошей биосовместимости и отсутствию риска иммунных реакций, материалы на основе полисахаридов были широко исследованы в качестве ГПКС, включая хитозан, крахмал, целлюлозу и альгинат. С каждым годом растет заинтересованность исследователей к производным целлюлозы, которые обладают

рядом свойств, которые позволяют рекомендовать их для экспериментальной апробации в качестве основы ГПКС (способность к биodeградации, невыраженная реакция организма, высокая растворимость и пр.) [30]. Научный интерес представляет натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ), которая растворима в воде и водных растворах щелочей, аммиака и хлорида натрия. Область применения Na-КМЦ зависит от молекулярной массы вещества, степени замещения в макромолекулярной цепи гидроксильных групп карбоксиметильными [43, 98].

ГПКС биологического происхождения (активно внедряются с 1972 года) обладают значительными кровоостанавливающими свойствами, непосредственно увеличивая количество свертывающих веществ в области повреждения, но высокая стоимость и риск иммунных реакций препятствуют более широкому использованию этих материалов и масштабному внедрению в клиническую практику. К таким материалам относят тромбин, фибрин, коллаген [25, 182].

Тромбин является естественным фактором свертывания внешнего и внутреннего каскадов коагуляции. В настоящее время в хирургической практике используется только рекомбинантный человеческий тромбин, который вызывает значительно меньше осложнений в виде реакций гиперчувствительности и способствует формированию более плотной основы сгустка [108]. Его применяют в комбинации с абсорбирующими либо другими биологическими агентами, влияющими на каскад коагуляции (ярким примером является Тахокомб). Клинические исследования показали его высокую эффективность при обширных резекциях печени, также доказан высокий уровень безопасности применения данного изделия [41]. Существует несколько поколений Тахокомб, важным отличием третьего (последнего) поколения по сравнению с его предшественниками является возможность хранения изделия при комнатной температуре. Биodeградация под действием тканевых ферментов происходит примерно за 24 недели. Стоит отметить, что Тахокомб представляет собой многокомпонентное изделие и может рассматриваться и как местное ГПКС на основе коллагена, который составляет основную его массу [41].

Фибрин представляет собой нерастворимый белок, который образует

трехмерную белковую сеть при взаимодействии фибриногена с тромбином. Доступные препараты на основе фибрина получили название «фибриновые герметики». Такие ГПКС состоят из двух основных (фибриноген и тромбин) и дополнительных компонентов (ионы Ca^{2+} , антифибринолитические средства, например, апротинин) [72, 178]. Кровоостанавливающий эффект таких изделий достигается за счет комплексного механизма действия: увеличение концентрации факторов свертывания и активация процессов коагуляции, физическое препятствие (герметизация повреждения), самополимеризация и склеивание структур вместе при нанесении в сухом поле [182, 160, 243].

1.5. Коллагенсодержащие кровоостанавливающие средства

Первые упоминания об использовании коллагеновых изделий медицинского назначения датируются 1881 годом. Джозеф Листер и его бывший студент Уильям Мейсвен независимо друг от друга сообщили о преимуществах использования биоразлагаемого шовного материала, называемого авторами «кетгут», приготовленного из тонкого кишечника овцы. В последующие годы возможности применения коллагена в хирургической практике значительно расширились, благодаря разработкам в данной области [94]. В качестве КС коллаген впервые был использован в 1970 году в США [238].

На сегодняшний день выделяют порядка 29 различных типов коллагена (каждый из которых включает 25 различных цепей аминокислотных остатков, собранных в комбинации), и все они имеют тройную спиральную третичную структуру. Деление на типы основано на разнице в их структуре, причем более 90% коллагена в организме классифицируются как тип I. Типы I–III, V и XI имеют фибриллярную четвертичную структуру. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, выстроенных параллельно и свернутых в левую спираль полипролинового типа II, которые образуют правую тройную спираль, стабилизированную межцепочечными водородными и внутрицепочечными связями [216]. Из всех известных типов коллагена лишь немногие используются в

производстве медицинских биоматериалов. Например, тройные спирали тропоколлагена собираются в фибриллы и агрегируются с образованием волокон, поэтому изделия из данного типа коллагена чаще используют для заживления ран.

Коллаген I типа является наиболее распространенным типом у животных и наиболее часто используется в медицине. Такие характеристики коллагена, как легкая экстракция, низкая стоимость и высокая биосовместимость, делают его привлекательным материалом для разработки медицинских изделий, которые вводят в организм или используют в качестве перевязочных средств [112].

Применение коллагена животного происхождения (из стенок полых органов, кожи крупного рогатого скота) осложняется аллергическими реакциями и передачей патогенов (преонов). Также важно помнить, что его свойства различаются в зависимости от органа и вида животного, от которого был получен коллаген [170, 174]. Поэтому в целях безопасности пациента в качестве альтернативы коллаген может быть получен путем гетерологичной экспрессии в клетках млекопитающих, насекомых и дрожжей. Так, коллаген, вырабатываемый *Escherichia coli*, имеет особые перспективы в разработке новых изделий медицинского назначения [118, 207, 212].

Материалы на основе коллагена можно разделить на две категории в зависимости от степени их очистки: децеллюляризованные коллагеновые матрицы, сохраняющие исходные свойства ткани и структуру фибрилл, и усовершенствованные волокна, полученные путем экстракции, очистки и полимеризации [133]. Децеллюляризация коллагена предполагает сочетание физических (мгновенное замораживание или высокое давление), химических (обработка кислотой или щелочью, хелатирование этилендиаминтетрауксусной кислотой, детергентами, растворами с высокой осмолярностью) и ферментативных (воздействие трипсина) методов для получения биоматериала. Коллаген в этой форме часто используется в качестве шовного материала, клапанов сердца и прочных протезов связочного аппарата [124, 224]. Другой способ включает обработку растворов коллагена другими биомолекулами, такими как эластин,

гликозаминогликаны и хитозан. Природный коллаген нерастворим в органических растворителях (ввиду наличия ковалентных поперечных связей), но может растворяться в водных растворах. Наиболее распространенные системы растворителей включают раствор нейтральной соли и разбавленной кислоты или раствор протеолитических ферментов, поскольку трехспиральный домен коллагена устойчив к протеазам, таким как пепсин, химотрипсин или фицин, при температуре ниже 20°C. Но пепсин при весовом соотношении фермента к сухой ткани 1:10 в разбавленной уксусной кислоте обеспечивает среду, в которой коллаген может легко набухать и растворяться [148].

Многие белки клеточных мембран (например, декорин и ламинин), которые содержат последовательность аминокислот RGD (аргинин-глицин-аспартат) или аналогичные последовательности распознавания интегринов, могут связываться как с коллагеном, так и с интегринами, способствуя клеточной адгезии и пролиферации [130]. Это объясняет роль коллагена в тромбозе и остановке кровотечений следующим образом: косвенные эффекты, опосредованные тромбоцитами (в случае отсутствия повреждений кровеносных сосудов кровь будет беспрепятственно циркулировать по субэндотелиальным структурам, составляющим соединительную ткань, которая содержит высокий процент коллагена); прямое взаимодействие с факторами свертывания: коллаген активирует внутренний путь каскада свертывания крови посредством трех факторов свертывания (XII, связывания фактора IX с коллагеном IV типа и взаимодействия с фактором Виллебранда) [132].

В России популярностью пользуются коллагеновые губки производства ООО «Лужский завод «Белкозин»» (в состав включены антисептики фурацилин и борная кислота). Он обладает низкой стоимостью и вследствие этого значительной доступностью для клинических баз. Губки готовят путем лиофилизации водных растворов коллагена, набухающих в кислоте или щелочи, содержащих 0,1–5% сухого вещества по массе. Их пористость контролируют путем изменения содержания концентрации коллагена, режимов скорости охлаждения и последующей заморозки. Такие губки способны поглощать значительное

количество тканевого экссудата, плотно прилегают к области повреждения за счет адгезивных свойств и поддерживают влажную среду, защищая при этом рану от дополнительных механических травм и бактериальной инфекции. Коллагеновые губки были объединены с эластином, фибронектином и гликозаминогликанами для повышения упругости и способности связывать жидкость [167, 169]. Также коллагеновые КС на этапе производства можно дополнительно «сшить» глутаровым альдегидом и конъюгировать с такими полимерами, как поли/гидроксиэтилметакрилат для получения гидрофильных матриц с повышенной механической прочностью. Трехмерные коллагеновые решетки, физиологически нагруженные фибробластами, были разработаны в качестве модели заживления ран *in vitro*. Коллаген способствует клеточной подвижности, поэтому воспалительные клетки активно проникают в его пористый каркас. Благодаря этому формируется васкуляризированная грануляционная ткань, которая, в свою очередь, стимулирует образование новой грануляционной ткани и эпителиальных слоев.

Губки на основе коллагена являются эффективным каркасом для нанесения экзогенных факторов роста на раны при остановке кровотечения. Коллагеновые губки I типа могут ускорить заживление ран, способствуя отложению зарождающихся коллагеновых волокон большого диаметра параллельно волокнам в губке, тем самым увеличивая собственную прочность.

Материалы на основе коллагена включают три типа КС: собственно коллаген, желатин и микрофибриллярный коллаген (МФК) [1]. Коллаген, в основном присутствующий в волокнистых соединительных тканях (кости, кожа, мышцы, сухожилия и связки), играет важную структурную роль в обеспечении прочности на растяжение и гибкости тканей и органов [231]. Желатин может образовываться в результате термической денатурации или необратимого гидролиза коллагена, а МФК представляет собой новую физическую форму, которую получают путем превращения коллагена корнума крупного рогатого скота (КРС) в частичную аминную соль хлористоводородной кислоты КРС [161].

Типичным коммерчески доступным коллагеновым продуктом является

гемостатическая губка Stypro® (Curasan AG, Клейнстхайм, Германия), получаемая из бычьего коллагена [114]. Микропористая структура губки стимулирует каскад свертывания крови, благодаря ее сверхпоглощающей способности (в 50 раз превышающей ее вес). Другим коллагеновым продуктом является НЕМОBLAST™ Bellows (Biom'up, Лион, Франция), представляющий собой порошок, состоящий из коллагена свиного происхождения, хондроитинсульфата бычьего происхождения и тромбина человеческого происхождения [166]. Порошок обладает высокой биосовместимостью и реабсорбируется в течение 4-х недель, а также он прост и готов к применению.

Продукты из МФК мягкие по структуре, но не рыхлые, белого цвета, пластичные. Используют в виде порошков (Avitene®), тканеподобных материалов, губок или небольших прокладок (Instat®). МФК для своей активации требует прямого контакта с кровоточащей тканевой структурой. Производные на основе коллагена активируют внутренний путь коагуляционного каскада, тогда как желатины индуцируют гемостаз через физические свойства. После применения МФК адгезия и активация тромбоцитов наступает в течение 2-5 минут [237]. Учитывая механизм действия, который зависит от активации тромбоцитов, МФК менее эффективен у пациентов с тяжелой тромбоцитопенией и коагулопатиями. Однако их эффект значительно лучше выражен, чем у других материалов, при глубокой гепаринизации пациентов [150]. По этой причине его чаще используют в сосудистой хирургии при профузных кровотечениях. В отличие от желатинов, коллаген не увеличивается в объеме и рассасывается менее чем за 4 недели. В 2013 году было проведено одноцентровое рандомизированное исследование COBBANA, в котором сравнивали КС на основе МФК (Lyostypt®) и окисленной целлюлозы (Surgicel®). По результатам данного исследования длительность кровотечения после применения МФК была в 3,5 раза меньше, чем после использования Surgicel. В 27 случаях из 32 гемостаз с помощью МФК достигнут в пределах 3 минут, а на фоне Surgicel – только через 8 минут. Также исследователи отмечают большую экономическую целесообразность использования именно МФК вследствие применения меньшего количества вещества.

МФК может вызывать аллергические реакции, связанные с животными антигенами [174]. Также к недостаткам можно отнести необходимость нанесения гемостатика сухим инструментом, так как он имеет тенденцию прилипать к перчаткам, влажным поверхностям (инструментам). К достоинству коллагеновых КС следует отнести достаточно быструю остановку кровотечения, необходимость малого количества материала для его достижения, а также возможность их удаления из места нанесения без риска возобновления кровотечения в связи с тем, что каскад коагуляции уже был инициирован. В настоящее время хирурги используют МФК в небольших объемах, в частности, в нейрохирургии и сердечно-сосудистой хирургии [160].

Желатиновые материалы не только поглощают кровь, многократно превышающую их массу, но и концентрируют факторы свертывания крови и тромбоциты в месте повреждения. После адсорбции жидкого компонента крови желатиновый материал набухает, что, в свою очередь, обеспечивает сжимающий эффект в месте раны [230, 231]. В настоящее время существует несколько наиболее распространенных в практике продуктов на основе желатина, таких как GelFoam, FloSeal и Surgiflo [162]. GelFoam – твердое кровоостанавливающее средство на основе желатина, может увеличиваться в два раза за счет эффекта набухания, что обеспечивает эффект тампонады для остановки кровотечения. FloSeal и Surgiflo – жидкие кровоостанавливающие средства на основе желатина. FloSeal содержит запатентованную смесь желатиновой матрицы и тромбина для местного применения и готовится путем их смешивания непосредственно перед использованием. FloSeal имеет широкий спектр клинических применений, так как его жидкая форма обеспечивает гибкость при нанесении на раны неправильной формы, что приводит к тесному контакту с местом кровотечения [1, 41].

* * *

Анализируя результаты изучения литературы по вопросам травм и операций на паренхиматозных органах, можно констатировать, что количество

опубликованных статей в журналах, входящих в ведущие научные базы цитирования, продолжает оставаться на высоком уровне, а интерес как русскоязычных, так и англоязычных ученых по результатам поисковых запросов имеет симметричные тенденции. Данные, представленные в медицинской периодике, свидетельствуют о неснижающемся уровне травматизма и увеличении оперативной активности по поводу заболеваний органов брюшной полости, требующих в процессе вмешательства решения вопросов остановки кровотечения с использованием местных кровоостанавливающих средств. Многие авторы указывают на перспективность разработки бесшовных технологий в аспекте органосохраняющих операций. Немаловажным являются не только высокий кровоостанавливающий эффект новых разрабатываемых средств, но и стабильность формирующегося в результате их применения сгустка. Хирургические швы, применение физических и химических методов остановки кровотечения, по мнению большинства авторов, а также респондентов проведенного нами опроса, требуют дополнительного использования материалов, укрепляющих и стабилизирующих достигнутую хирургом остановку кровотечения. В настоящее время интенсивно разрабатываются новые кровоостанавливающие средства, в состав которых входят разнообразные комбинации полимеров, лекарственных веществ, биологически активных субстанций. Однако до настоящего времени в арсенале хирурга все еще отсутствует надежное и безопасное местное средство остановки кровотечения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

2.1.1. Характеристика исследуемого материала

С целью изучения мнения хирургов об использовании местных кровоостанавливающих средств изучали базы данных, сформированные автоматически в процессе анкетирования специалистов.

Для изучения степени прорезывания наложенных швов применяли трупную печень 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, а также хирургические волокна одинаковой толщины, отличающиеся по текстуре.

В качестве исследуемых материалов использовали образцы губчатых кровоостанавливающих средств. Экспериментальными образцами служили материалы, предназначенные для местного применения с целью остановки капиллярного кровотечения, разработанные совместно с кафедрой химии Курского государственного университета (консультанты: к.х.н., доцент Т.Н. Кудрявцева; заведующий кафедрой к.х.н., доцент И.Б. Кометиани (КГУ)), изготовленные на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии (руководитель: д.м.н., профессор В.А. Липатов) и испытательной лаборатории медицинских изделий (руководитель: к.м.н. Е.Г. Обьедков) НИИ экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета (директор: д.б.н. Е.Б.Артюшкова).

Рабочая гипотеза основана на возможности потенцирования процесса коагуляции крови при травме печени путем введения в структуру кровоостанавливающего средства коллагена, использования взамен рутинно

применяемому коллагену животного происхождения коллагена морского.

В данной работе в качестве компонента экспериментальных коллагенсодержащих кровоостанавливающих средств (ККС) использовали коллаген типа «AKSOLAGEN marinum» (сертификат соответствия ЕАЭС N RU Д- RU.PA03.B.36504/22), предоставленный ООО «АС РС» (г. Калининград, Российская Федерация). Сырье представляет собой высокомолекулярный изолированный коллаген I, II и III типов, выделенный из биологического сырья гигантского кальмара, измельченный и высушенный в форме порошка. Молекулярная масса коллагена в сырье составляла 300 кДа, насыпная плотность порошка – 0,45 г/см³.

Для изготовления ГПКС сухой коллаген глубоководного кальмара диспергировали в водном растворе муравьиной кислоты (рН 3,0-4,0), полученную суспензию с содержанием коллагена 3% оставляли на 10-12 ч. для набухания коллагена, в результате чего получалась однородная полупрозрачная масса, в которую затем вносили глутаровый альдегид. Параллельно готовили 1% раствор Na-КМЦ. Полученные растворы полимеров смешивали, добавляли глицерин в количестве 50% от совокупной массы сухих полимеров, после тщательного перемешивания разливали в формы толщиной слоя 15 мм, замораживали при -600 С и подвергали лиофилизации (камерная лиофильная сушилка Scientz 30F, КНР). Контрольные образцы, не содержащие коллаген, изготавливали аналогичным способом путем лиофильной сушки 4% раствора Na-КМЦ. Данная концентрация была подобрана эмпирически при сопоставлении с вязкостью раствора образцов опытной группы. Во всех случаях получали схожий по внешнему виду губчатый материал белого или кремового цвета толщиной 10-11 мм.

Полученные образцы упаковывали в блистер, состоящий из подложки на бумажной основе и пластикового колпака (ООО «СЕАН», г. Москва, Российская Федерация). Запаивание упаковки обеспечивалось при помощи нагревания в упаковочной машине BSL-5045L (КНР).

Так как опытные образцы содержат в своем составе коллаген (белковую структуру), классические методы стерилизации сухим жаром и автоклавированием

использовать не представлялось возможным ввиду термолабильности коллагена. Проведя поиск доступных и относительно недорогих методов стерилизации таких изделий, пришли к мнению, что в условиях лаборатории рационально применить стерилизацию рентгеновским излучением [156, 157, 192].

Для проведения стерилизации изготовленных и упакованных образцов ГПКС применяли рентгеновскую установку ПРДУ с микрофокусным источником рентгеновского излучения (ЗАО «ЭЛТЕХ-мед», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). В бокс устройства помещали упакованные образцы, затем устанавливали мощность на аноде рентгеновской трубки 150 Вт, облучение образцов экспозиционировали пятикратно по 60 секунд.

Исследование стерильности образцов губчатых средств, содержащих коллаген, проводили в соответствии с методическими указаниями (МУК 4.2.2942-11) «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 15.07.2011 г.), п. 4. Контроль стерильности проводили путем прямого посева (погружения) изделий целиком в тиогликолевую питательную среду, используемую для контроля стерильности различных биоматериалов, а также для культивирования широкого круга аэробных, микроаэрофильных и анаэробных бактерий. Посевы выдерживали в термостате (термостат электрический суховоздушный ТС-1/80 СПУ) при температуре 32°C в течение 7 суток. Учет результатов исследования на стерильность осуществляли путем визуальной регистрации наличия или отсутствия роста микроорганизмов.

Разработанные нами и исследуемые экспериментальные образцы ГПКС, представляющие собой полимерные кондуиты, имеющие пористую структуру и содержащие разное количество коллагена и полимерной основы (Na-КМЦ), сопоставлялись с изделиями схожего состава и структуры, производимыми серийно и применяемыми в хирургической практике для местной остановки кровотечения (Таблица 3).

В качестве материала для исследования использовали кровь доноров-

добровольцев. Острые и хронические опыты выполняли на лабораторных животных (крысы и кролики), изучали их биологические жидкости и ткани.

Таблица 3 – Характеристика исследуемых материалов

№	Название	Производитель	Состав
1	Опытные образцы ГПКС: Na-КМЦ + коллаген	Лаборатория ЛЭХиО и ИЛМИ НИИ ЭМ КГМУ	4% гель Na-КМЦ, 15% коллагена
2			4% гель Na-КМЦ, 25% коллагена
3			4% гель Na-КМЦ, 50% коллагена
4	Na-КМЦ	Лаборатория ЛЭХиО и ИЛМИ НИИ ЭМ КГМУ	4% гель Na-КМЦ
5	ГКГ	ООО «Лужский завод «Белкозин», Россия	На 1 г: коллаген, субстанция – раствор 2% – 49 г (0,98 г сухого коллагена), нитрофура (фурацилин) – 0,0075 г, борная кислота – 0,0125 г
6	Средство кровоостанавли- вающее Surgicel Fibrillar	JOHNSON & JOHNSON, США	7-слойный гемостатический материал на нетканой основе оксидированной и регенерированной целлюлозы
7	Пластина кровоостанавли- вающая «Тахокомб»	TAKEDA, Австрия	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

2.2. Дизайн исследования

Дизайн включал в себя ряд этапов по решению поставленных в данном исследовании задач.

Первый этап посвящен изучению мнения экспертного сообщества – врачей-хирургов о применении для остановки паренхиматозного кровотечения местных кровоостанавливающих средств.

На последующих этапах проводилось проспективное рандомизированное

контролируемое исследование в форме однофакторного модельного эксперимента.

На втором этапе на фрагментах печени трупов людей под контролем натяжения изучали динамику изменения силы в процессе затягивания гемостатических швов с использованием разных шовных материалов.

В опытах *in vitro* на третьем этапе изучали физико-механические свойства, структуру и влияние разных образцов разработанных кровоостанавливающих средств (по сравнению с аналогами) на время свертывания крови в их присутствии.

На четвертом этапе на животных моделях изучали кровоостанавливающую активность разработанных средств.

В условиях хронического эксперимента на пятом этапе проводили сравнительные изучения темпов биodeградации и реакцию окружающих тканей на подкожное размещение образцов кровоостанавливающих средств.

На шестом этапе в хроническом опыте *in vivo* на разработанных моделях изучали интраоперационную эффективность применения кровоостанавливающих средств и реакцию на их применение как со стороны печени, так и со стороны окружающих ее органов и тканей.

Седьмой этап заключался в системном математическом анализе и поиске возможных взаимосвязей между структурными особенностями ГПКС, их различными свойствами и результирующими проявлениями в процессе и после применения в виде показателей кровоостанавливающей активности и локальных изменений.

Графическая схема дизайна исследования представлена ниже (Рисунок 5).

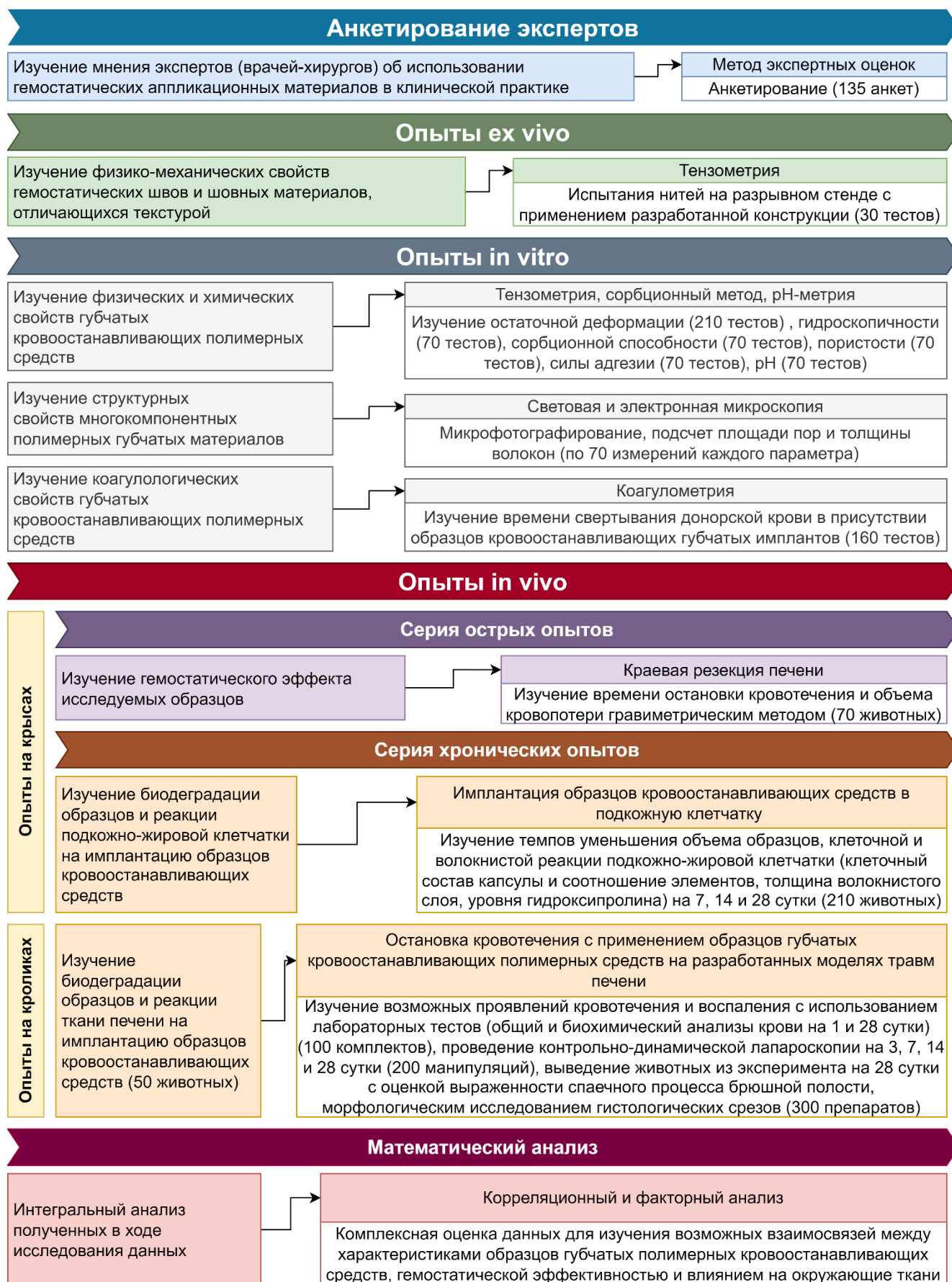


Рисунок 5 – Дизайн исследования

2.3. Распределение материала по группам исследования и последовательность выполнения экспериментов

В ходе анкетирования об использовании местных гемостатических материалов было опрошено 135 практикующих врачей-хирургов (анкета, приложение А).

Для исследования физико-механических характеристик гемостатических швов при операциях на печени и деформации ее паренхимы при затягивании узлов были сформированы 3 группы, согласно структуре используемого шовного материала (монофиламентный, полифиламентный крученный и полифиламентный плетеный), по 60 образцов.

Распределение доноров-добровольцев, образцов ГПКС и лабораторных животных по сериям и группам представлено в таблице ниже (Таблица 4).

Таблица 4 – Распределение числа наблюдений: образцов материалов и лабораторных животных по сериям

Серии эксперимента	Группы наблюдения (образцы материала)	n
Серия 1: оценка физико-механических свойств (остаточная деформация после сжатия (3 теста) и гидроскопичность), pH и структуры образцов (световая и электронная микроскопия)	Группа № 1. Na-КМЦ+ коллаген 15%	60
	Группа № 2. Na-КМЦ+ коллаген 25%	60
	Группа № 3. Na-КМЦ+ коллаген 50%	60
	Группа № 4. Na-КМЦ	60
	Группа № 5. Губка гемостатическая коллагеновая) (ГКГ)	60
	Группа № 6. Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	60
	Группа № 7. Тахокомб	60

Продолжение Таблицы 4

Серия 2: исследование влияния местных гемостатических материалов на образование сгустка крови в эксперименте <i>in vitro</i>	Группа № 0. Контрольная группа – внесение образцов не проводилось	20
	Группа № 1. Na-КМЦ+ коллаген 15%	20
	Группа № 2. Na-КМЦ+ коллаген 25%	20
	Группа № 3. Na-КМЦ+ коллаген 50%	20
	Группа № 4. Na-КМЦ	20
	Группа № 5. ГКГ	20
	Группа № 6. Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	20
	Группа № 7. Тахокомб	20
Серия 3: изучение кровоостанавливающей активности в условиях эксперимента <i>in vivo</i> (в остром опыте) на моделях травмы печени (время кровотечения и объем кровопотери)	Группа № 1. Na-КМЦ+ коллаген 15%	20
	Группа № 2. Na-КМЦ+ коллаген 25%	20
	Группа № 3. Na-КМЦ+ коллаген 50%	20
	Группа № 4. Na-КМЦ	20
	Группа № 5. ГКГ	20
	Группа № 6. Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	20
	Группа № 7. Тахокомб	20
Серия 4: исследование биodeградации и реакции тканей в хроническом опыте на подкожное размещение образцов ГПКС	Группа № 1. Na-КМЦ+ коллаген 15%	30
	Группа № 2. Na-КМЦ+ коллаген 25%	30
	Группа № 3. Na-КМЦ+ коллаген 50%	30
	Группа № 4. Na-КМЦ	30
	Группа № 5. ГКГ	30
	Группа № 6. Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	30
	Группа № 7. Тахокомб	30

Продолжение Таблицы 4

Серия 5: Исследование в условиях хронического эксперимента <i>in vivo</i> реакции органов и окружающих тканей на применение тестируемых образцов	Группа № 1. Na-КМЦ+ коллаген 15%	10
	Группа № 2. Na-КМЦ+ коллаген 25%	10
	Группа № 3. Na-КМЦ+ коллаген 50%	10
	Группа № 5. ГКГ	10
	Группа № 7. Тахокомб	10

2.4. Методы исследования

2.4.1. Опрос врачей-хирургов об использовании гемостатических полимерных
кровоостанавливающих средств

Опрос врачей-хирургов об использовании ГПКС проводили путем анкетирования и автоматического формирования базы данных ответов на поставленные вопросы. Составление опросника и интерпретация полученных результатов проводились при консультировании с профессором кафедры хирургических болезней Института непрерывного образования ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, д.м.н. Г.А. Бондаревым.

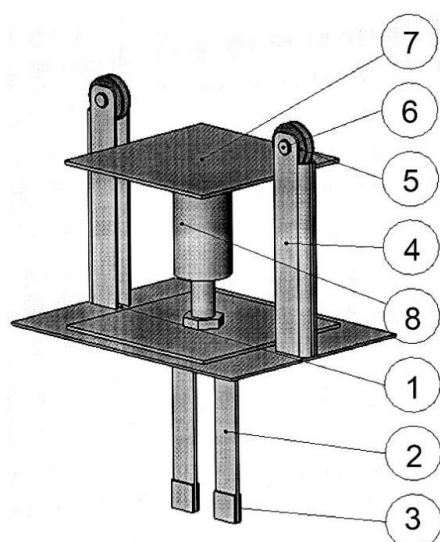
2.4.2. Изучение физико-механических характеристик гемостатических швов при
операциях на печени

С целью проведения оценки физико-механических характеристик шовного материала различной текстуры и изучения их динамических изменений при затягивании наложенных на печень швов применяли моделирование ушивания раны в опытах *ex vivo* с тензометрическим контролем. В качестве объекта исследования использовались участки диафрагмальной поверхности правой доли печени трупов лиц мужского пола в возрасте 35-40 лет, изъятых в ОБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы» города Курска. Изъятие и использование

биологического материала осуществлялось в рамках Постановления Правительства РФ от 21.07.2012 № 750 (ред. от 17.12.2016) «Об утверждении Правил передачи невостробованного тела, органов и тканей умершего человека для использования в медицинских, научных и учебных целях, а также использования невостробованного тела, органов и тканей умершего человека в указанных целях».

Одним из основных критериев отбора биологического материала стало отсутствие каких-либо макроскопических патологических изменений, а также отсутствие заболеваний печени в катамнезе. Временной промежуток от момента смерти и изъятия органа до его использования в исследовании составлял не более 12 часов с целью минимизации негативного влияния аутолиза на достоверность полученных результатов.

Для проведения опыта отделяли участок паренхимы органа размерами 7,5х7х4 см. Следующим этапом наносили рану на выделенном участке, длина которой составляла 3 см, глубина 2 см. Рану ушивали простым узловым швом, который не затягивали, а накладывали один простой полуузел. Для лигирования использовали отрезок шовного материала длиной 50 см. Такая длина нити оптимальна для дальнейшей работы на испытательном стенде. При этом использовали монофиламентные (Кетгут), крученые (Капрон крученый) и плетеные (ПГА – нить полигликолидная) шовные материалы равной толщины (3/0 по USP). После моделирования раны и ее лигирования исследуемый участок органа помещали на устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов, разработанное на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (Патент на полезную модель № 184617 от 01.11.2018 г.) (Рисунок 6).



- 1 – горизонтальное основание,
- 2 – две нижние стойки,
- 3 – фиксирующие пластинки,
- 4 – две верхние изогнутые полуovalом стойки,
- 5 – пластиковые шкивы,
- 6 – болт,
- 7 – предметный столик,
- 8 – втулка предметного столика.

Рисунок 6 – Устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов

В качестве дополнительного оборудования использовали машину испытательную универсальную электромеханическую РЭМ–0,2-1 (производитель: ООО «МЕТРОТЕСТ», г. Нефтекамск, Республика Башкортостан), оснащенную динамометром и дисплеем, на котором отражаются графические изменения при натяжении шовного материала (Рисунок 7). При этом обращали внимание на максимальное усилие (F_{max}) до прорезывания паренхимы органа и/или разрыва шовного материала, а также степень вытяжения нити (L_u). Всего было выполнено 30 измерений. Расчеты консультировались заведующим кафедрой физики, информатики и математики КГМУ, к.б.н. доцентом Л.В.Снегиревой.

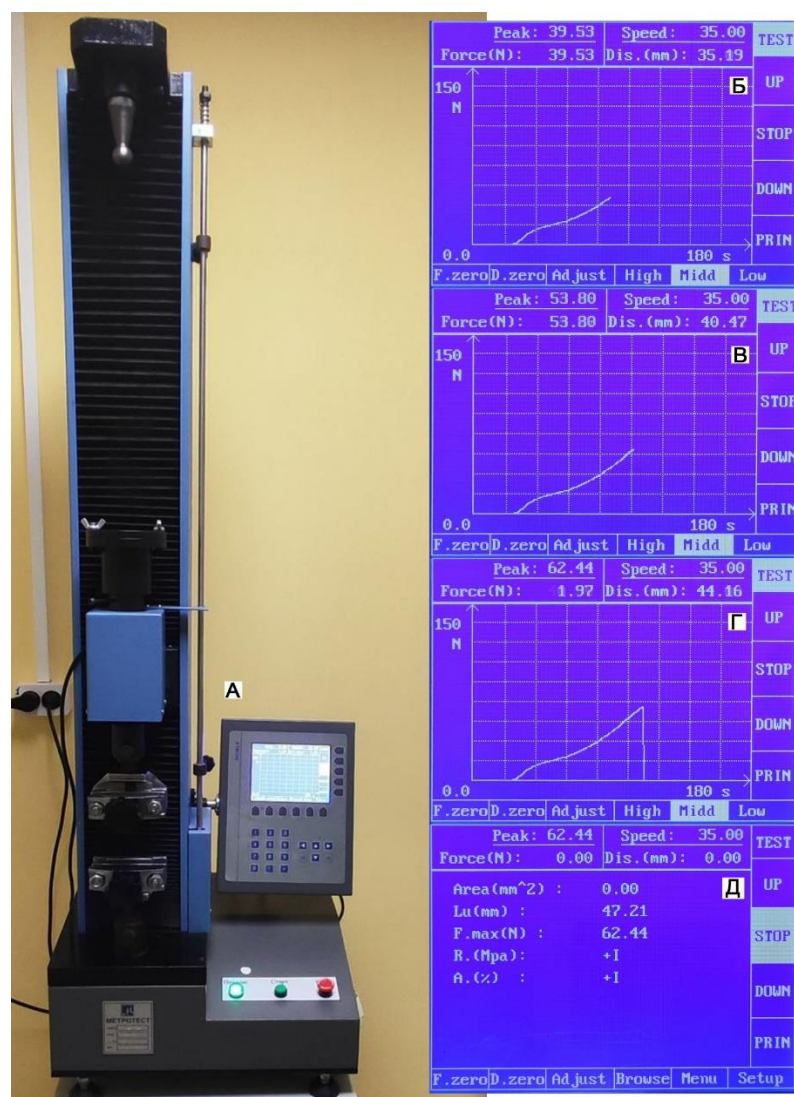


Рисунок 7 – Машина испытательная универсальная электромеханическая РЭМ–0,2-1 (А), показания монитора в процессе испытания (Б–Д)

2.4.3. Методы исследования физико-механических и химических свойств исследуемых образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Отбор образцов для исследования проводили следующим образом: образцы необходимого размера вырезали из центральной части ГПКС, извлеченных из упаковок не ранее чем за 1 сутки до измерения. Использовались образцы с неистекшим сроком годности, принадлежность к той или иной партии не контролировалась.

Для измерений использовались: микрометр с малыми губками EZ mic (iGaging LLC, КНР), весы AND GH-252 (AND, Япония), стенд

электромеханический РЭМ 0.2-1 (ООО «Метротест», Россия), аквадистиллятор АЭ-4 (производитель ООО ПФ «Ливам», Россия), инкубатор IGS60 (производитель Thermo Fisher Scientific, США), лабораторный погружной измеритель качества воды WaterLiner-WMM-97 (производитель ООО «Метроникс», Россия). Для подготовки проб использовали центрифугу LMC-3000 (Biosan SIA, Латвия). Всего выполнено 420 испытаний образцов ГПКС.

Остаточная деформация при сжатии на 50%

Для оценки остаточной деформации при сжатии на 50% толщины в проекции геометрического центра образца с помощью микрометра с малыми губками EZ mic (производитель iGaging LLC, КНР) трижды измеряли его толщину. Среднее трех измерений считали истинной толщиной образца до сжатия (h_1). Затем рассчитывали необходимую дистанцию движения траверсы стенда электромеханического РЭМ 0,2-1 (производитель ООО «Метротест», Россия) для сжатия образца на 50% его толщины (ОДС 50%). После этого образцы помещали на стеклянную подложку, которую устанавливали на поднимающейся траверсе РЭМ 0,2-1. Стеклянную подложку, жестко закрепленную на инденторе, устанавливали так, чтобы ее нижняя поверхность касалась верхней поверхности образца. Затем траверсу со скоростью 30 мм/мин поднимали, сжимая образец на 50% его толщины, после чего образец оставляли под давлением на 10 секунд. После снятия нагрузки образец снимали с подложки и измеряли толщину после сжатия (непосредственно после сжатия, через 5, 10 и 30 минут) аналогично методике оценки толщины до сжатия. Данные временные промежутки выбраны нами для оценки, опираясь на время использования (манипулирования) образцов оперирующим хирургом: время на вскрытие стерильной упаковки, моделирование по размеру раны, компрессия пальцами и/или инструментом, ожидание эффективной остановки кровотечения. Выполнено 70 измерений образцов ГПКС.

Остаточную деформацию при сжатии на 50% определяли по формуле для каждого измерения:

$$\varepsilon_{\text{ост}50\%} = \frac{h_{\text{ост}} - 0,5}{h_0} \times 100\% \quad (1), \text{ где}$$

$\varepsilon_{\text{ост}50\%}$ – остаточная деформация сжатия,

h_0 – толщина образца до сжатия,

$h_{\text{ост}}$ – толщина образца после сжатия.

Аналогичные вычисления проводили для полученных показателей спустя 5, 10 и 30 минут,

$[\varepsilon_{\text{ост}50\%}] = 1\%$.

Сорбционная способность

Для определения сорбционной способности губок специальным образом подготавливали центрифужные пробирки: на дно пробирок помещали жесткую металлическую проволоку так, чтобы высота образующейся подложки составляла не менее 30 мм, сверху помещали вырезанную по сечению пробирки фильтровальную бумагу, закрывали пробирки пробками.

Рассчитывали необходимый размер образцов так, чтобы их объем составлял 1 см^3 , измеряли их массу.

Образцы выдерживали в подогретой (37°C) дистиллированной воде 5 минут, затем помещали в подготовленные пробирки и центрифугировали с ускорением 1500 g в течение пяти минут. После центрифугирования фильтровальную бумагу и образец извлекали, снимали образец с фильтровальной бумаги и измеряли его массу. С целью тестирования образцов ГПКС выполнено 70 измерений.

Сорбционную способность единицы массы губки определяли по формуле:

$$C_{\text{H}_2\text{O}}^m = \frac{\frac{m_{\text{обр.цен.}} - m_0}{M_{\text{H}_2\text{O}}}}{m_0} \quad (2);$$

сорбционную способность единицы объема губки определяли по формуле:

$$C_{\text{H}_2\text{O}}^V = \frac{\frac{m_{\text{обр.цен.}} - m_0}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}}}{V_0} \quad (3), \text{ где}$$

CH_2O – сорбционная способность в отношении воды,

$m_{\text{обр.цен.}}$ – масса образца после центрифугирования,

m_0 – масса образца губки,

ρ_{H_2O} – плотность воды,

V_0 – объем образца губки,

$[C_{H_2O}^m] = 1$ моль/кг,

$[C_{H_2O}^V] = 1$ мл/см³.

Полная пористость

При исследовании полной пористости губок пробирки подготавливали указанным выше способом. Далее осуществляли ту же последовательность действий, что и при оценке сорбционной способности. Отличие заключается лишь в том, что образцы погружали в ортоксилол, а не в дистиллированную воду на 2 минуты. Разницу между массой подготовленной пробирки до помещения образца и после центрифугирования считали массой выделившегося из пор ортоксилола. Для сравнительного изучения полной пористости образцов ГПКС было выполнено 70 измерений.

Коэффициент открытой (полной) пористости рассчитывали по формуле:

$$K_{\text{п.п.}} = \frac{\frac{m_{\text{хыл}}}{\rho_{\text{хыл}}}}{V_{\text{обр}}} \quad (4), \text{ где}$$

$K_{\text{п.п.}}$ – коэффициент открытой пористости,

$m_{\text{хыл}}$ – масса выделившегося из пор ортоксилола,

$\rho_{\text{хыл}}$ – плотность ортоксилола,

$V_{\text{обр}}$ – объем образца.

Кислотность

Водородный показатель (pH) растворов измеряли согласно

модифицированной методике, описанной в ГОСТ 12523-77 «Целлюлоза, бумага, картон. Метод определения величины pH водной вытяжки». Для этого мерный стеклянный стакан наполняли 5 мл дистиллированной воды, полученной с помощью аквадистиллятора АЭ-4, которую доводили до pH=7,0 добавлением щелочи (NaOH гранулированный, производитель ООО «Диаэм», Россия). После этого в них помещали тестируемые образцы объемом 1 см³ так, чтобы они полностью были погружены в жидкость. Затем стаканы с образцами выдерживали в инкубаторе IGS60 в течение 24 часов при температуре +37°C. Кислотность получившегося раствора оценивали с помощью лабораторного погружного измерителя качества воды WaterLiner-WMM-97. Выполнено 70 измерений водной вытяжки тестируемых образцов ГПКС.

Сила адгезии поверхности ГПКС к брюшине

Для определения адгезивных свойств ГПКС оценивалось усилие, необходимое для разобщения исследуемого гемостатического средства с поверхностью брюшины в опыте *ex vivo*. Для этого использовался участок внутренней поверхности вентральной брюшной стенки, полученный у крыс линии Вистар после CO₂-индуцированной эвтаназии. П-образным разрезом формировали лоскут, размер которого составлял 2 x 2 см. Крысу со сформированным дефектом фиксировали к неподвижной траверсе стенда универсального электромеханического РЭМ 0,2-1 (ООО «Метротест», г. Нефтекамск, Башкортостан). На верхнюю подвижную траверсу устанавливали подложку размером, эквивалентным сформированному лоскуту вентральной стенки. К подложке, в свою очередь, фиксировали исследуемый объект аналогичного размера. Затем на стенде устанавливали усилие сжатия лоскута образцом на уровне 10 Н в течение 1 минуты. Затем на режиме «Тест» испытательного стенда определяли пиковые значения усилия, необходимого для разобщения образца и вентральной стенки [36, 96, 194]. Всего в ходе исследования выполнено 70 измерений.

2.4.4. Методы исследования структуры губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Образцы изучались в проходящем свете и при одинаковом во всех случаях боковом освещении с микрофотопротоколированием и последующей морфометрией.

Растровая микроскопия проводилась на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) Quanta 650 FEG на базе ООО «Междисциплинарный нанотехнологический центр», г. Курск под руководством кандидата техн. наук, доцента кафедры физики и нанотехнологий федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный университет» О.В. Яковлева. Параметры исследования: ускоряющее напряжение пучка (HV) 6,0 kV, размер пучка – 3,0. СЭМ изображения всех гемостатических губок были получены в режиме вторичных электронов (SE). Было выполнено 70 исследований.

Компоненты структуры измеряли с помощью триал-версии программы ImageTool 3.0.

2.4.5. Методы исследования влияния образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств на время свертывания крови в эксперименте *in vitro*

Каждый донор-доброволец был ознакомлен с бланком информированного добровольного согласия (Приложение Б), а также памяткой для участников эксперимента. В исследовании принимали участие 10 доноров, было выполнено 70 тестов.

Оценку влияния тестируемых образцов на образование сгустка крови проводили, исследуя такой показатель, как «время свертывания», согласно разработанной методике (патент РФ № 2700165 от 13.09.2019 г. «Способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс

образования сгустка крови *in vitro*») и ее модификации, описанной ниже.

В условиях процедурного кабинета Университетской клиники Курского государственного медицинского университета в утренние часы, натощак у 10 здоровых доноров-добровольцев (юноши 19-23 лет), не имеющих в анамнезе патологии системы гемостаза, забирали кровь из кубитальной вены. Для этого использовали вакуумные пробирки (вакутайнеры), содержащие 3,2% раствор цитрата натрия. Соотношение объемов крови и цитрата натрия – 9:1. Перемешивание крови с антикоагулянтом производили переворачиванием вакутайнера 3 раза.

Перед исследованием предварительно взвешивали 0,006 г (соотношение объема крови и тестируемого образца – 1:650) исследуемого материала на аналитических весах (данная масса не влияет на вязкость крови, не вызывает образование сгустка в пробирке) и измельчали с помощью механического гомогенизатора TissueRuptor II до однородности. После этого переносили из вакутайнера кровь донора в мерный стеклянный стакан, который затем помещали на платформу магнитной мешалки (RH basic 2 IKAMAG, ИКА, Германия), постепенно засыпали указанную массу полученного порошка для полного контакта частиц с кровью в течение 3-х минут при 1000 об/мин.

В кювету коагулометра АПГ2-02-П (производитель – ООО ЭМКО, г. Москва, Россия) помещали стальной шарик, добавляли с помощью микропипетки 100 мкл тромбопластин-кальциевой смеси для рекальцификации стабилизированной цитратом крови, после чего сюда же вносили 100 мкл цитратной крови, смешанной с исследуемым порошком. Запуск таймера коагулометра (время начала исследования) проводили вручную после установки кювет в измерительные ячейки аппарата.

С кровью каждого донора проводили по семь опытов, согласно количеству экспериментальных групп. В каждой экспериментальной группе выполняли по 10 коагулометрических исследований, согласно числу доноров. Каждое исследование включало в себя оценку времени свертывания в двух кюветах коагулометра одновременно, что позволило увеличить точность и снизить погрешности

исследования.

2.4.6. Методика изучения эффективности образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств в остром эксперименте *in vivo*

Приоритетным аспектом при выполнении исследования служило строгое соблюдение этических принципов, соблюдение норм и правил лабораторной практики. Планируя работу, руководствовались принципом «3R» (replacement – замена болезненных для животных экспериментов опытами, не причиняющими страданий; reduction – уменьшение числа опытов с животными; refinement – улучшение методики с целью облегчения страданий подопытных животных). Для расчета минимального и одновременно достаточного количества животных использовали формулу:

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta)^2}{\delta^2} \sigma, \quad (5)$$

где n – число особей в группе; $z\alpha$ и $z\beta$ – критические значения нормального распределения в соответствии с уровнями ошибок (I и II рода), которые заданы заранее; δ – разница измеряемых величин ($\mu_2 - \mu_1$); σ – стандартное отклонение, полученное в результате пилотного исследования [67].

Исследование выполняли под наблюдением Регионального этического комитета при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 16.11.2020 г.) в соответствии с приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199Н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики»; ГОСТом 31891-2012 «Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*», ГОСТом 33215-2014 от 07.01.2016 г., «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», ГОСТом 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами», «Руководство по содержанию и использованию животных для экспериментов и в научных целях».

При организации исследований принимали во внимание основные положения FELASA, 2007 г.: директивы 2010/63/EU Европейского парламента и

Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях (соответствует требованиям Европейской экономической зоны), решения коллегии евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 27 «Об утверждении единых ветеринарных (ветеринарно-санитарных) требований, предъявляемых к объектам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору)», Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 18 марта 1986 года [104, 106].

Исследование выполняли в стерильных условиях операционного блока лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

Под общей ингаляционной анестезией (наркозный аппарат RWD Life Science R340 Isoflurane, производитель: Hi Tech North Rd, Nanshan Dist., Shenzhen, Guangdong Province, China, концентрация изофлюрана во вдыхаемой газовой смеси – 3%, поток воздуха – 0,4 л/мин) после стандартной трехкратной обработки операционного поля крысам-самцам линии Вистар (массой 200-250 г.) проводили срединную лапаротомию, после чего в рану выводили левую долю печени и выполняли краевую резекцию последней (отсекали участок 10x5x5 мм) (Рисунок 8). Вмешательство сопровождалось обильным паренхиматозным кровотечением. На кровоточащую область разреза накладывали исследуемое гемостатическое средство, соответствующим ране размером (1,0x1,0 см) с известной массой. В ходе эксперимента оценивали объем кровопотери (объем крови, впитанный одним образцом), время кровотечения. Объем кровопотери (V) определяли гравиметрическим методом по Е.М. Левитэ с помощью аналитических весов AND GH-252 (производитель компания A&D Company, Limited, Япония): разница в массе тестируемого материала до операции (m_1 , г) и после (m_2 , г) его пропитывания кровью в ходе операции. Визуально регистрировали продолжительность кровотечения (t , сек.), отнимая от раны образец каждые 10 секунд, отметив окончание кровотечения отсутствием его пропитывания, момент остановки кровотечения фиксировали с помощью секундомера.

Животные были выведены из эксперимента путем CO_2 – индуцированной эвтаназии сразу после выполнения оперативного вмешательства. Всего выполнено 70 экспериментов.

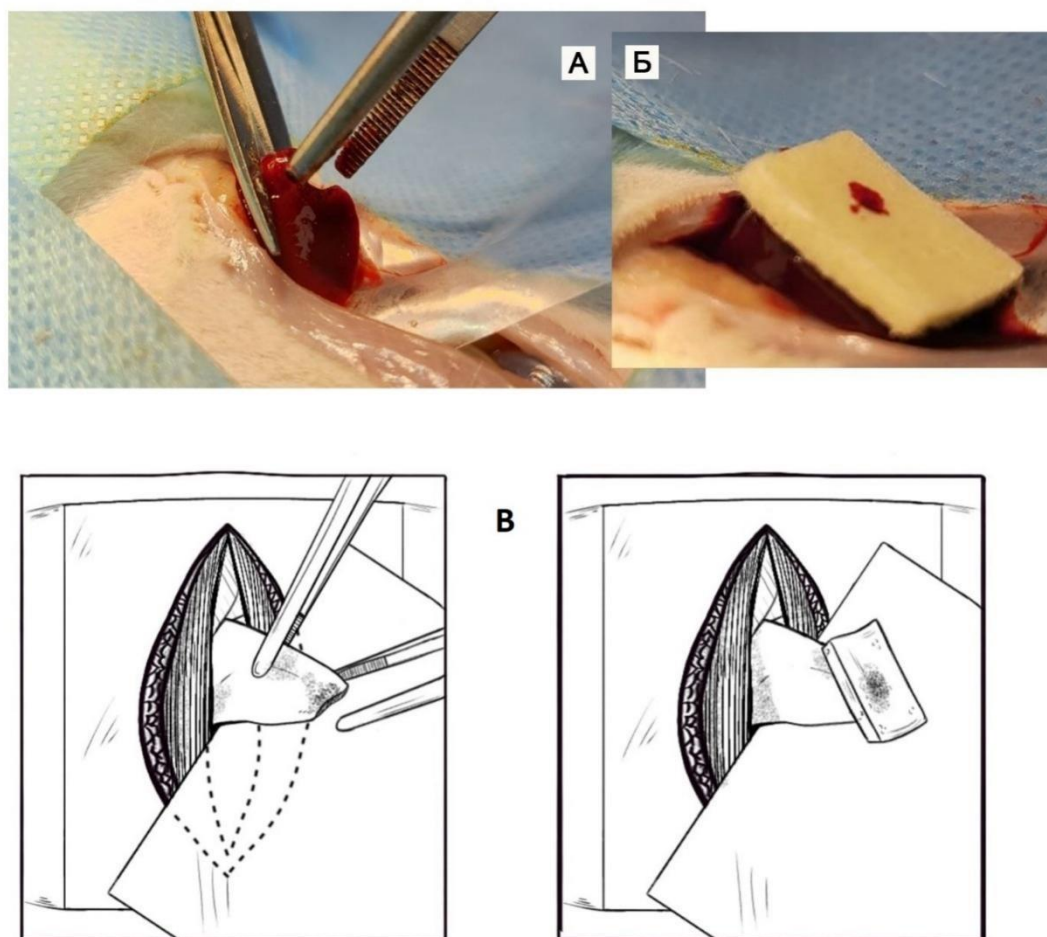


Рисунок 8 – Методика изучения кровоостанавливающей эффективности ГПКС на модели травмы печени (А, Б) со схематическим изображением эксперимента (В)

2.4.7. Методы исследования реакции организма на подкожное размещение образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Все животные подвергались однотипным операциям. Под ингаляционным наркозом изофлюраном крыс фиксировали в положении «на животе», подготавливали операционное поле. Оперативное вмешательство проводилось с соблюдением правил асептики и антисептики. Производили рассечение кожного и подкожно-жирового слоев по паравертебральной линии справа длиной 2 см. Тупым

путем в подкожной клетчатке формировали два кармана между мышечным и кожным слоями по обе стороны от разреза глубиной 3,5 см на протяжении всего разреза. В каждый карман помещали образец ГПКС размером 2х2 см. Операционную рану ушивали наглухо с захватом мышечного слоя с целью изоляции карманов, содержащих экспериментальные образцы (Рисунок 9). Животные были выведены на 7-е, 14-е и 28-е сутки после размещения ГПКС в подкожно-жировой клетчатке.

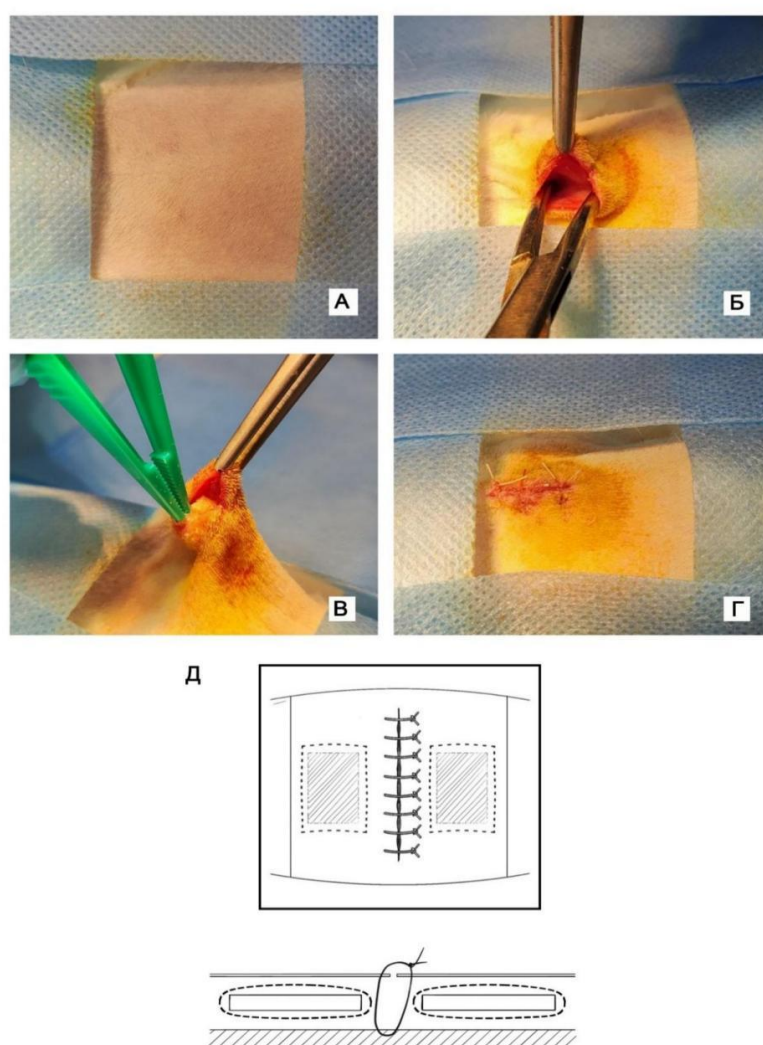


Рисунок 9 – Этапы подкожного размещения образцов изучаемых ГПКС в подкожной клетчатке с формированием карманов по обе стороны от срединной линии (А-Г – этапы эксперимента, Д – схематическое изображение размещенных в подкожной клетчатке образцов)

Сроки выведения животных из эксперимента обусловлены сменой фаз

воспаления (экссудативная фаза, фаза пролиферации и фаза ремоделирования). Сроки наступления фаз воспаления при исследовании реакции организма на введение материалов различного происхождения ранее определены в ходе многочисленных исследований [94, 96, 106]. В каждом случае была произведена аутопсия с иссечением участка справа и слева от паравертебральной линии в местах размещения ГПКС для анализа реакции тканей на исследуемое средство, темпов его биодegradации, а также для биохимического анализа содержания гидроксипролина в тканях соединительнотканной капсулы. Всего выполнено 210 вмешательств на животных.

Методика определения уровня гидроксипролина в тканях

На первом этапе пробоподготовки осуществляли обезжиривание и щелочной гидролиз. Для этого образец ГПКС, предварительно обработанный жидким азотом повышенной чистоты (ГОСТ 9293-74, 1 сорт), измельчали в латунной ступке с последующим обезжириванием гексаном чистотой «analytical reagent» производства VWR Chemicalis (Франция) и лиофилизовали. Брали точную навеску с помощью аналитических весов «AND» высушенного и измельченного материала, помещали в пластиковую пробирку типа Eppendorf и приливали 10 М раствор NaOH чистоты «for analysis» производства Thermo Fisher scientific. Пробирки помещали в цифровой термостат TBD-120 «Biosan» при температуре +90°C и выдерживали в течение 15 часов. После щелочного гидролиза полученный гидролизат охлаждали до комнатной температуры и проводили нейтрализацию раствора путем прибавления 10 М раствора HCl чистотой «apur» производства компании CDH (Индия). Так как после высушивания образцов в ячейках наблюдались кристаллы хлорида натрия, образующегося в результате нейтрализации и меняющего оптическую плотность раствора, было принято решение минимизировать данную примесь в анализах. Для этого образцы после нейтрализации высушивали до постоянной массы, вносили в пробирки разные растворители: дихлорметан чистоты «apur» производства компании CDH

(Индия), ацетонитрил и тетрагидрофуран чистоты «extra pure» производства Neofroxx (Германия), метанол (осч, Компонент-Реактив), изопропанол в объеме 1 мл чистоты «extra pure» производства компании PanReac AppliChem (Испания) центрифугировали 25 минут при скорости 13400 g в микроцентрифуге «Eppendorf» 5452 Minispin», отделяли натант с помощью дозатора и переносили в другую пробирку «Eppendorf». Затем полученный раствор аминокислот помещали в микроцентрифугу «Eppendorf» 5452 Minispin» и проводили разделение при скорости вращения 13400 g в течение 5 минут. Далее отбирали нативную жидкость, находящуюся в верхнем слое, вносили ее в ячейки планшета для иммунологических реакций в количествах 4, 6, 8 мкл и стандартный образец транс-4-гидрокси-L-пролина производства Sigma Aldrich в объеме 0, 2, 4, 6, 8 и 10 мкл и оставляли сушиться при температуре +65°C в термостате.

Параллельно с высушиванием готовили растворы, необходимые для дальнейших реакций. Для последующего проведения анализа готовили буферный раствор, состоящий из водного раствора уксусной кислоты, содержащего ацетат натрия «for analysis» производства Merck (Австрия), NaOH «for analysis» производства Thermo Fisher scientific, моногидрат лимонной кислоты for analysis производства Merck (Австрия). Значение pH буфера доводили до 6,0 с помощью 10 М HCl.

После высушивания наблюдали дефекты ячеек планшета, в которые вносились образцы с применением следующих растворителей: тетрагидрофуран, дихлорметан. Результаты анализа данных ячеек далее не учитывались.

Раствор Хлорамина Т готовили следующим образом: точную навеску Хлорамина Т от Neofroxx растворяли в ранее приготовленном буферном растворе и добавляли заданный объем н-пропанола.

Для приготовления реагента Эрлиха брали точную навеску п-(N-диметиламино) бензальдегид и растворяли в смеси н-пропанол и 38% HCl в объемном соотношении 7:3.

После высушивания в образцы вносили по 0,1 мл раствора Хлорамина Т в каждую ячейку и выдерживали при комнатной температуре 20

минут. Далее добавляли в каждый образец по 0,1 мл ранее приготовленного раствора реактива Эрлиха и выдерживали при 65°C в течение 45 минут. Наблюдали изменение окраски растворов исследуемых образцов от светло-желтой до темно-фиолетовой. Прерывали реакцию резким охлаждением в морозильной камере при температуре -24°C в течение 3 минут. Измеряли оптическую плотность при длине волны 540 нм на микропланшетном ридере с функцией термостатирования «AMR-100».

Полученные в результате колориметрического анализа данные вносили в Excel, после чего производились расчеты. Выполнено 70 измерений.

Методики проведения гистологического исследования

Для проведения морфологического анализа биологического материала от животных, принявших участие в хронических опытах, использовали рутинную гистотехническую методику. Полученный биологический материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После фиксации иссекали меньшие кусочки тканей с фрагментами образцов и после промывки, обезвоживания и пропитывания парафином по стандартной методике. Из полученных парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон.

На микрофотографиях оценивали состояние окружающих тканей, строение соединительнотканной капсулы, наличие и выраженность ее слоев, степень зрелости коллагеновых волокон, а также толщину сформированной волокнистой части капсулы. Качественный состав клеточного слоя капсулы оценивался с учетом кариологических признаков ядродержащих клеток.

При оценке состояния тканей печени в области моделированной травмы и введения ГПКС на микрофотографиях проводили качественный и количественный состав капсулы вокруг тестируемого образца. Степень биodeградации образцов оценивали посредством световой микроскопии визуально полуколичественно и по степени макрофагальной реакции. Микрофотографирование и морфометрию

осуществляли с помощью системы цифровой микроскопии Nikon Eclipse Ni-U и сканирующего микроскопа Nanozoomer SQ C13140-21, лицензионного программного обеспечения, входящего в комплект поставки (NIS-Elements Basic Research (BR), 4.0).

Для объективного сравнения реакции рыхлой волокнистой соединительной ткани (РВСТ) на тестируемые материалы использовали клеточный индекс: отношение количества клеток-резидентов к общему количеству клеток-нерезидентов. Изготовлено 70 парафиновых блоков.

$$\text{Клеточный индекс (КИ)} = \frac{\text{Клетки-резиденты}}{\text{Клетки-нерезиденты}} \quad (6),$$

где клетки-резиденты – это сумма макрофагов, фибробластов и фиброцитов, а клетки-нерезиденты – сумма гранулоцитов и лимфоцитов в клеточном слое соединительнотканной капсулы.

При значении КИ <1 делали вывод о преобладании воспалительных изменений, характерных для I фазы течения раневого процесса, при значении КИ >1 – о преобладании репаративных тенденций, характерных для II фазы раневого процесса по М.И. Кузину.

2.4.8. Методы исследования реакции тканей печени на размещение губчатых полимерных кровоостанавливающих средств при различных вариантах травмы в хроническом эксперименте *in vivo*

Техника выполнения оперативного вмешательства

Данный этап исследования выполняли на кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» массой 2,5-4 кг. Количество циркулирующей крови у данных животных составляет по разным данным от 5,45% до 7,69% массы тела. Этот факт обуславливает возможность проводить опыты, сопровождающиеся кровопотерей до 40 мл крови, без возникновения гемодинамически значимых

расстройств. Кроме того, толерантность тромбоцитов кролика к различным лекарственным средствам близка к таковым у человека, что обуславливает схожую реакцию со стороны клеточного гемостаза на изучаемые средства.

Исследование выполняли в стерильных условиях операционного блока лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ ЭМ КГМУ. Для обеспечения анестезиологического пособия использовался ингаляционный масочный наркоз (наркозный аппарат RWD Life Science R340 Isoflurane, производитель: Hi Tech North Rd, Nanshan Dist., Shenzhen, Guangdong Province, КНР), концентрация изофлюрана во вдыхаемой газовой смеси – 3%, поток воздуха – 0,8 л/мин) с соблюдением международных и отечественных норм гуманного обращения с лабораторными животными: директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, приказ Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», приказ Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и пр.

Животные содержались в условиях экспериментально-биологической клиники КГМУ, где имели неограниченный доступ к корму и воде на всем протяжении эксперимента. В момент подготовки к операции все животные размещались на операционном столе в положении на спине с теплоизолирующей подкладкой.

Моделирование травмы печени проводили тремя разными способами. Правую долю печени подвергали тангенциальной резекции, иссекая ткань по прямой линии, отступив 1 см от края. В средней доле тупым путем формировали полость посредством диссекции ее паренхимы разведением браншей зажима, введенного в толщу ткани, и последующей его тракции без смыкания браншей на длину 1 см. В результате этого формировалась полость размерами 1х1 см в толще средней доли печени. На поверхности левой доли печени предварительно производили рассечение капсулы квадратной формы размерами 1х1 см с

последующим иссечением намеченного лоскута с формированием поверхностного дефекта глубиной 0,3- 0,5 мм (Рисунок 10).



Рисунок 10 – Линии разрезов при моделировании травмы печени: сплошная красная линия – поверхностные дефекты, пунктир – формирование дефекта в толще паренхимы

Непосредственно после моделирования каждого вида повреждения печени для остановки кровотечения применяли образец ГПКС соответственно серии. При этом для гемостатических целей торцевую раневую поверхность, образовавшуюся после иссечения края правой доли печени, укрывали кровоостанавливающим средством. В образованную в глубине средней доли печени полость вводили образец через раневой канал, сформированный манипулятором. Поверхностный дефект, воспроизведенный на левой доле печени, укрывали изучаемым образцом средства (Рисунок 11).

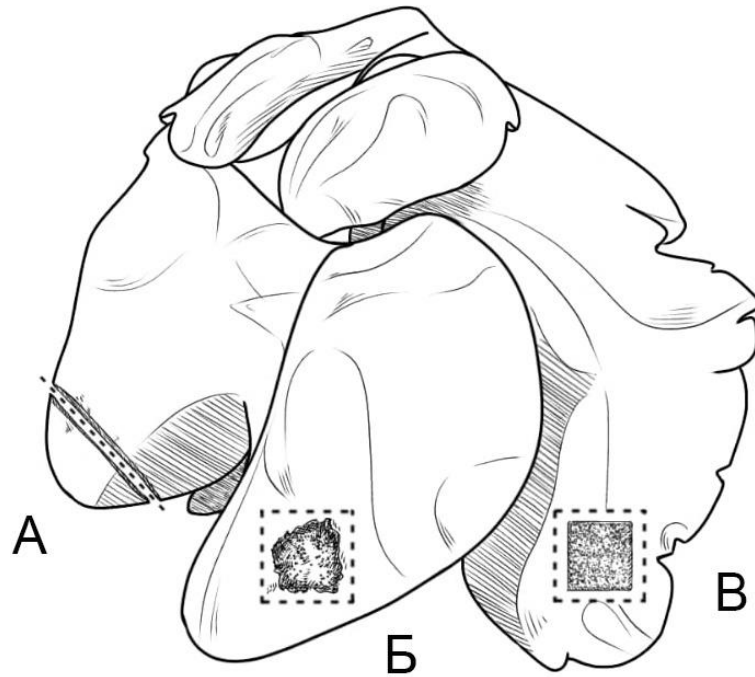


Рисунок 11 – Схематическое изображение размещения тестируемых образцов ГПКС в области моделированных травм печени: после выполнения тангенциального среза правой доли (А), полости в толще средней доли (Б) и на поверхности ее левой доли (В)

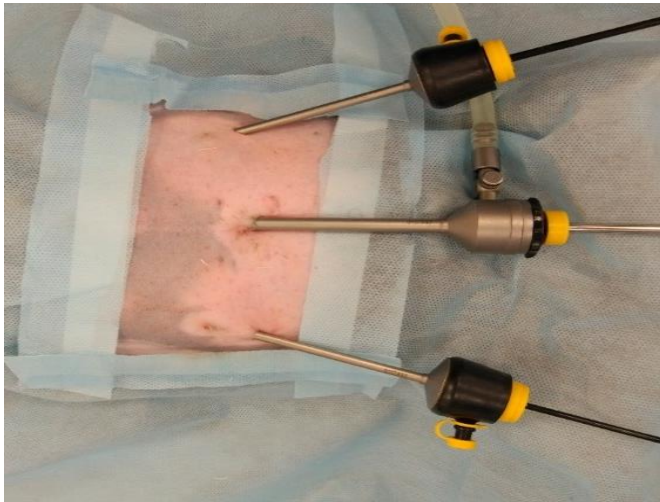
Оперативное вмешательство выполняли с помощью видеоэндоскопического комплекса. После обработки операционного поля стандартным методом и его отграничения в мезогастррии производили лапароцентез иглой Veresh и выполняли наложение карбоксиперитонеума с предустановленными параметрами: давление 7 мм рт. ст., поток 1 л/мин.

В брюшную полость устанавливали оптическую канюлю и 5 мм эндоскоп, после чего проводили ревизию брюшной полости и идентификацию печени. Затем последовательно устанавливались 2 троакара диаметром по 3 мм каждый для инструментов-манипуляторов.

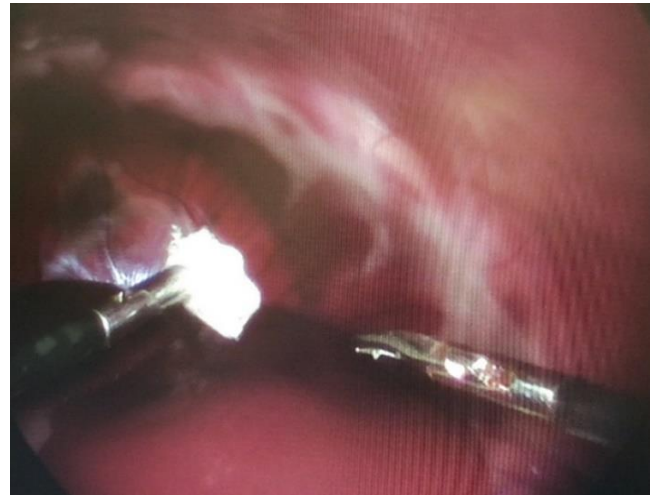
Посредством иссечения эндоскопическими ножницами края правой доли печени тангенциально на 1 см в глубину получали торцевую рану. Для остановки кровотечения использовали ГПКС с последующим плотным его прижатием к поверхности дефекта.

С помощью эндоскопического диссектора тупо разделяли паренхиму

средней доли печени в краниальном направлении на расстоянии 5 см от ее края на всю глубину и ширину браншей диссектора. В ране развивалось паренхиматозное кровотечение. Затем в рану помещали полотно образца и фиксировали прижатием («Способ лапароскопического моделирования рваной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов», Евразийский патент на изобретение 042177 В1 по заявке № 202000200/25 от 23.07.2020 г.) (Рисунок 12).



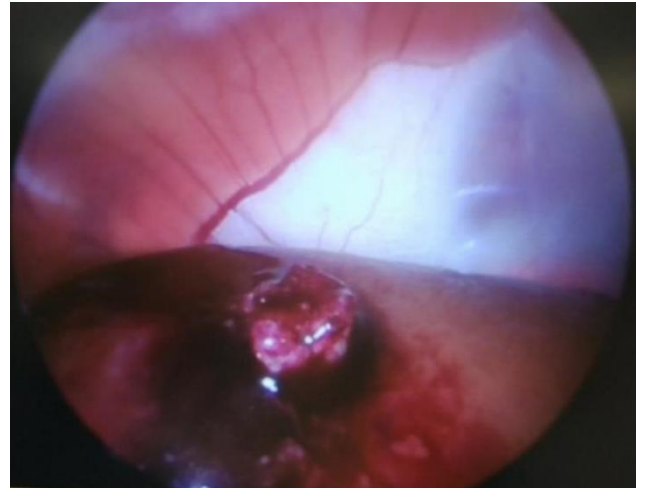
А



Б



В



Г

Рисунок 12 – Этапы выполнения оперативного вмешательства:

А – расположение троакаров, Б – тестируемый образец введен в брюшную полость, В – нанесение травмы печени; Г – образец ГПКС установлен в рану печени

Дефект диафрагмальной поверхности левой доли печени формировали в два этапа. На первом этапе эндоскопическими ножницами рассекали глиссонову капсулу четырьмя линейными разрезами, при соединении, образующими квадрат

размером 1,0x1,0 см. На втором этапе с помощью эндоскопического фиксатора и диссектора отделяли сформированный квадратный лоскут вместе с глиссоновой капсулой, в результате чего образовывали поверхностный дефект диафрагмальной поверхности глубиной 0,3-0,5 см. Для остановки кровотечения использовали образцы ГПКС.

Во всех экспериментах в рану помещали образцы ГПКС одинаковых размеров 1,0x1,0 см без использования фиксационных и гемостатических швов. В послеоперационном периоде антибактериальную терапию животным не проводили.

Решение о включении каждого животного в одну из пяти экспериментальных групп принимали случайным образом: разные образцы в соответствии с группами применяли по очереди (от первого до пятого до окончательного формирования групп в соответствии с дизайном эксперимента). Всего в эксперименте приняли участие 50 животных.

Методы лабораторно-инструментальных исследований

Перед моделированием травмы печени, а также на 28-е сутки после моделирования травмы печени у каждого животного производили забор венозной крови из наружной яремной вены.

После этого на базе экспериментально-биологической клиники оценивали:

- концентрацию АСТ, АЛТ, билирубина, щелочной фосфатазы с помощью набора реактивов и автоматического биохимического анализатора ACCENT 200;
- показатели общего клинического анализа крови (количество эритроцитов, гематокрит – Ht, уровень гемоглобина – Hb, количество тромбоцитов, количество лейкоцитов) автоматическим гематологическим анализатором RT-7600S (версия для ветеринарии).

На 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки каждому животному проводили контрольно-динамическую лапароскопию (КДЛ), макроскопически оценивали: реакцию брюшины, наличие, количество и характер выпота, локальные признаки

проявления патологических процессов, в частности, выраженность спаечного процесса брюшной полости (СПБП) по методу, разработанному профессором В.А. Липатовым (2013 г.).

Ниже приводим шкалы, примененные для оценки выраженности СПБП (таблицы 5-7).

Таблица 5 – Оценка видов спаек по их морфологической организации

Баллы	Характеристика
0 баллов	Спайки отсутствуют
1 балл	Шнуровидные спайки
2 балла	Пленчатые спайки
3 балла	Плоскостные спайки

Таблица 6 – Оценка распространенности СПБП

Баллы	Характеристика
0	Спайки отсутствуют
1	Единичные спайки, локализующиеся в одном из условно выделенных квадрантов брюшной полости
2	Единичные спайки, локализующиеся в двух из условно выделенных квадрантов брюшной полости
3	Единичные спайки, локализующиеся в трех из условно выделенных квадрантов брюшной полости
4	Тотальное спайкообразование – в процесс вовлечены все квадранты брюшной полости

Таблица 7 – Оценка деформации органов, вовлеченных в СПБП

Баллы	Характеристика	Полый орган
0	Деформация органов отсутствует	Двенадцатиперстная кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Тощая кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Подвздошная кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Слепая кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	

Продолжение таблицы 7

0	Деформация органов отсутствует	Большая ободочная кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Малая ободочная кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Предпрямая кишка
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Мочевой пузырь
1	Заметная деформация внутренних органов	
0	Деформация органов отсутствует	Желчный пузырь
1	Заметная деформация внутренних органов	

Выведение животных из эксперимента осуществлялось методом цервикальной дислокации на 28-е сутки после операции. После чего была проведена аутопсия с изъятием травмированного участка печени. Всего произведено 150 оценок в процессе КДЛ. Выведение животных из эксперимента на этом сроке обосновано тем, что в ранее проведенных исследованиях установлено, что на 7-14-е сутки в области модельного повреждения паренхиматозного органа протекает пролиферативная фаза воспаления [102, 109], что наряду с последствиями доступа к органу приводит к формированию спаек в брюшной полости. Оценка соответствия состояния регенерата в объеме модельной раны и выраженности СПБП является одной из задач настоящего исследования.

2.4.9. Методы математической и статистической обработки результатов исследования

В связи с достаточным и минимальным (по данным большинства экспериментальных исследований) числом наблюдений ($n=10$) статистическая нулевая гипотеза о соответствии данных закону нормальности распределения (или отличии от нормального) проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для признаков, которые были распределены в соответствии с законом нормального распределения, для описания выборки применяли среднее арифметическое

значение (M), в качестве показателя рассеяния – стандартную ошибку среднего (m): $M \pm m$. Для критериев, не подчиняющихся закону нормального распределения, определяли медиану (Me), 25 и 75 квартили: Me [25; 75]. Для проверки статистической значимости различий средних величин изучаемых признаков в независимых группах, в случае их нормального распределения в исследуемых подгруппах, применен критерий Ньюмена-Кейлса. Различия средних изучаемых признаков, не имеющих нормального распределения в исследуемых группах, определяли с помощью U критерия Манна-Уитни, а при множественном сравнении – критерия Краскела-Уоллиса. Для определения взаимосвязи между признаками использован корреляционный анализ с использованием непараметрического метода по Спирмену. Величина корреляции определена по шкале Чеддока (от очень (менее 0,5) слабой до очень высокой (более 0,7)). С целью определения значимости влияния характеристик образцов на результаты их применения (гемостатическую эффективность и показатели гистосовместимости) применяли факторный анализ. Считали допустимой для экспериментальных медико-биологических исследований величину ошибки (вероятность ошибочно отклонить нулевую гипотезу) 5% (уровень $p \leq 0,05$). В качестве программной среды использовали лицензионную версию программы Statistica 13 (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).

ГЛАВА 3. АКТУАЛИЗАЦИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

В опросе приняли участие 135 врачей хирургических специальностей (мужчины – 97, женщины – 38), практикующих на базах профильных отделений лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ). Среди них преобладали коллеги со значительным опытом и стажем работы: 10-15 лет – 16 человек; 15-20 лет – 22 человека; более 20 лет – 38 человек. Также во внимание принимали и мнение менее опытных врачей, имеющих стаж работы менее 5 лет – 40 человек; 5-10 лет – 19 человек. Большинство респондентов составили хирурги общей практики – 49% (Рисунок 13).

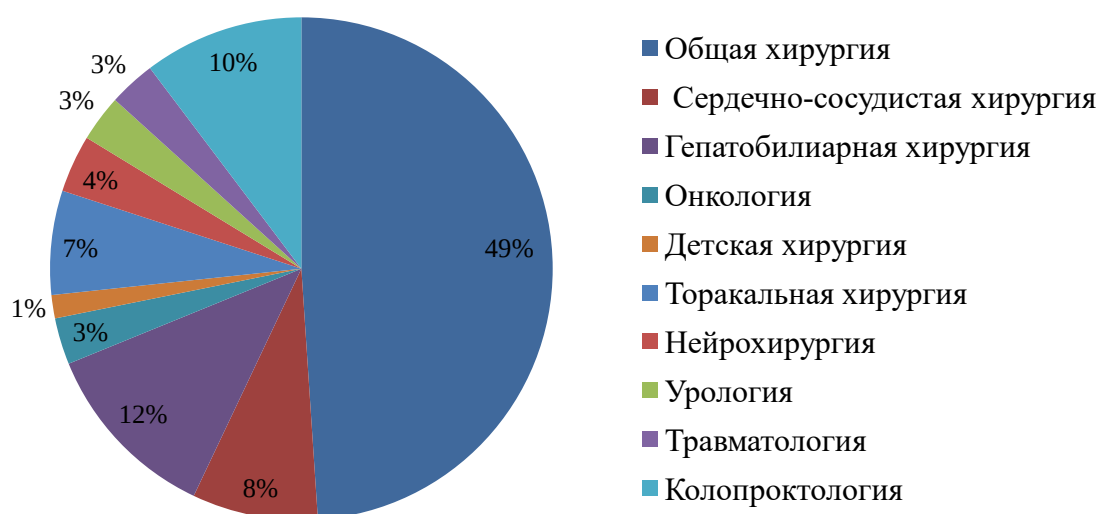


Рисунок 13 – Соотношение респондентов согласно специальностям, %

Высшую квалификационную категорию по специальности имели 43% всех респондентов, первую категорию – 7,4%, вторую – 10,6%, не имели категории – 39% (Рисунок 14). Отдельно отметим представителей высшей школы из общего числа респондентов, среди которых три доктора медицинских наук и 38 кандидатов наук. Помимо этого, в числе респондентов 21 заведующий отделением, 3 эксперта

международного уровня. Уровень ЛПУ, в которых работали респонденты: федеральное – 5, региональное – 124, центральное районное – 6. Членами всероссийских профессиональных ассоциаций по своей специальности являлись 55 респондентов.

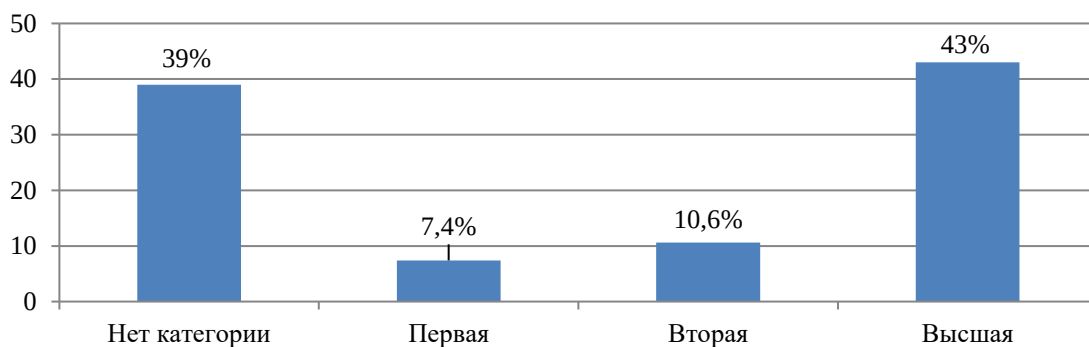


Рисунок 14 – Распределение респондентов по наличию квалификационной категории, %

Согласно данным, представленным ниже, можно сказать, что в плановой хирургии чаще встречаются кровотечения, оцениваемые в 1-3 балла, в экстренной хирургии чаще встречаются кровотечения от 6 до 8 баллов (Рисунок 15).

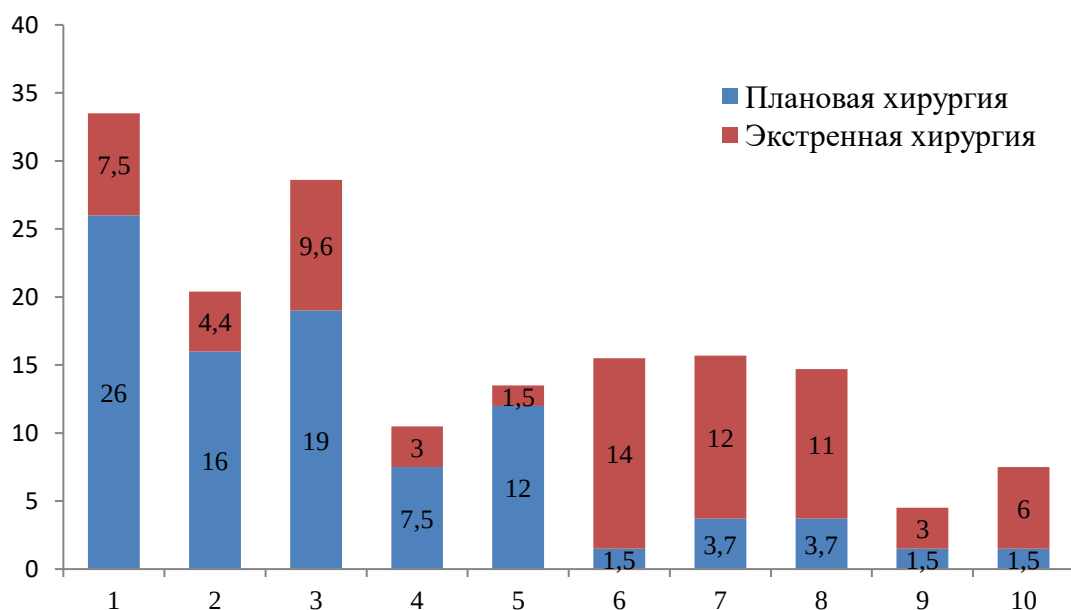


Рисунок 15 – Частота встречаемости кровотечений из паренхиматозных органов в плановой и экстренной хирургии, оцениваемая по десятибалльной шкале (1 – редко, 10 – наиболее часто), %

Согласно мнению респондентов наиболее часто при травме паренхиматозных органов встречается диффузное (паренхиматозное) кровотечение – 6-7 баллов (по десятибалльной шкале: 1 – редко, 10 – наиболее часто), затем следует венозное кровотечение – 4-5 баллов, смешанное – 3-4 балла и артериальное – 0-1 балл. При этом объем кровопотери при операциях на паренхиматозных органах составляет более 300 мл – 6-7 баллов, 100-200 мл – 5-6 баллов, 20-100 мл – 0-2 балла, что требует массивной трансфузионной поддержки таких пациентов.

В практике большинства опрошенных коллег чаще встречались травмы паренхиматозных органов II-III степени (по классификации Е. Мооре) и крайне редко встречались травмы V-VI степени (Таблица 8). Травмы паренхиматозных органов живота, заканчивающиеся летальным исходом, встречали в своей клинической практике 60% респондентов.

Таблица 8 – Виды травм паренхиматозных органов, отмеченные респондентами (по Е. Moore)

Степень	Характер повреждения	Встречались в практике респондентов, %
I	Гематома. Подкапсульная, стабильная, занимает менее 10% поверхности. Разрыв (рана). Глубина менее 1 см без кровотечения	13
II	Гематома. Подкапсульная, стабильная, занимает 10-50% поверхности. Центральная, стабильная, менее 2 см в диаметре. Разрыв (рана). Глубина менее 3 см, длина менее 10 см, кровотечение	21
III	Гематома. Подкапсульная, стабильная, занимает более 50% поверхности. Подкапсульная, нестабильная любого диаметра. Подкапсульная с разрывом и кровотечением. Центральная, стабильная, более 2 см в диаметре. Центральная, нестабильная, любого диаметра. Разрыв (рана). Глубина более 3 см	33
IV	Гематома. Центральная гематома с разрывом и кровотечением. Разрушение паренхимы на 25-50% доли или от 1 до 3 сегментов	18

Продолжение Таблицы 8.

V	Разрыв (рана). Сосудистые повреждения. Разрушение паренхимы более чем на 50% доли или более 3 сегментов. Юкстапеченочные повреждения (нижняя полая вена, воротная вена, печеночные артерии, желчные протоки)	10
VI	Сосудистые повреждения. Отрыв печени	5

Основная масса способов остановки кровотечения при травмах паренхиматозных органов, используемых респондентами, приходится на наложение гемостатических швов (30%) и использование ГПКС (27%) (Рисунок 16). Также отметим, что среди применяемых в периоперационном периоде лекарственных средств, оказывающих влияние на свертывающую систему крови, приходится на не прямые коагулянты – Викасол (42%) (Рисунок 17), что вполне соотносится с мировой практикой и клиническими рекомендациями, разработанными экспертами Всемирного общества неотложной хирургии – WSES (от 2016 г.): «Translation of WSES classification and guidelines for liver trauma».

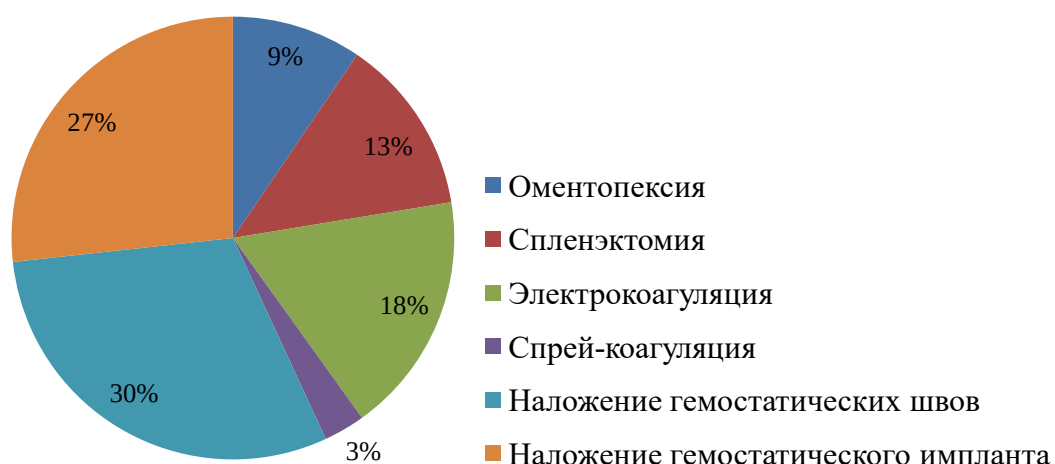


Рисунок 16 – Способы остановки кровотечения при травмах паренхиматозных органов, которые использовали респонденты в клинической практике, %

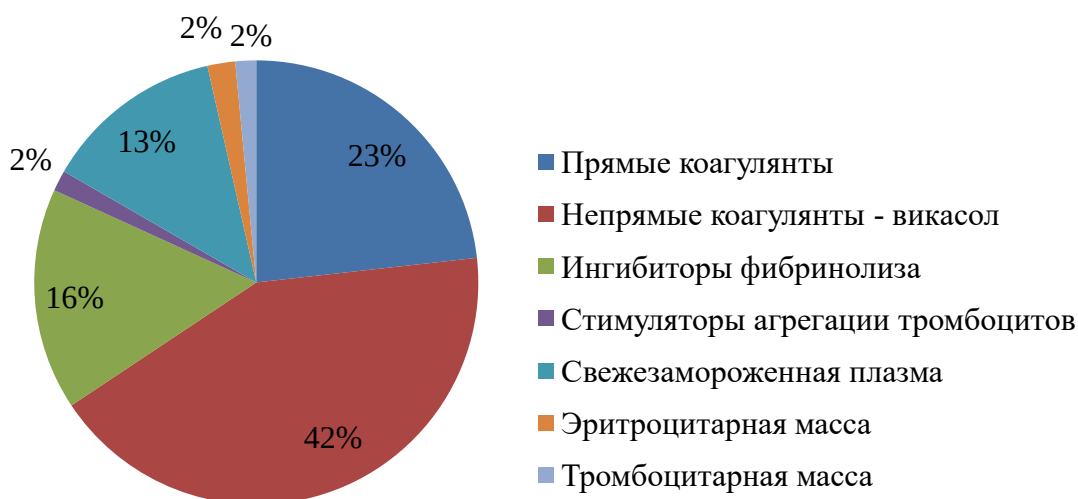


Рисунок 17 – Распределение мнений респондентов по вопросу: «Какие лекарственные средства, относящиеся к группе препаратов «Системные гемостатические средства», а также компоненты крови вы используете интраоперационно и в послеоперационном периоде для остановки кровотечения из паренхиматозных органов брюшной полости?», %

Практически полное равенство случаев использования традиционных способов интраоперационной остановки кровотечения и ГПКС подтверждается широким внедрением последних в клиническую практику хирургических стационаров. Это наглядно иллюстрировали ответы коллег на следующий кластер вопросов, посвященных оценке применения и доступности кровоостанавливающих средств, обладающих местным гемостатическим эффектом.

На вопрос: «Используете ли вы ГПКС в вашей практической деятельности при операциях на паренхиматозных органах брюшной полости?» 83 респондента ответили утвердительно, а 52 – не использовали никогда по следующим причинам: в связи с их низкой эффективностью (т.е. они не останавливали кровотечение) – 14 человек, медленно, в неудовлетворительные сроки останавливали кровотечение – 1 человек, не обеспечивали стабильную остановку кровотечения – 8. Ввиду возможного развития осложнений (нагноения и пр.) в послеоперационном периоде – 6; 23 респондента не использовали ГПКС, так как их вообще нет в наличии в ЛПУ, несмотря на готовность врачей их применять. 85 респондентов ответили положительно на вопрос: «Используют ли ваши коллеги ГПКС в своей

практической деятельности при операциях на паренхиматозных органах брюшной полости?»

«Доверие» к местным ГПКС основано на небольшом числе рецидивов интраоперационного кровотечения после использования ГПКС, отмеченных только 24 респондентами. Также рецидивы кровотечения возникали в практике у 34 респондентов после остановки кровотечения традиционными способами. Нагноение гемостатического материала в послеоперационном периоде отмечали 9,5% респондентов.

Стоит учесть, что большинство респондентов предпочитали «перестраховаться» во время операции (77%) и считали, что местные средства эффективны в комбинации с иными (традиционными) методами остановки кровотечения (Рисунок 18).



Рисунок 18 – Распределение мнений респондентов по вопросу: «Какова роль ГПКС в интраоперационной остановке кровотечения?», %

40 респондентов сталкивались с клинической ситуацией, когда требовалось выполнение релапаротомии по поводу рецидивного кровотечения в послеоперационном периоде, после остановки кровотечения традиционными способами, и в практике 7 респондентов отмечались подобные случаи после применения местных гемостатических средств.

В вопросе № 17 анкеты нами рассматривались аспекты применения

нескольких наиболее часто используемых в клинике ГПКС зарубежного и отечественного производства, что подтверждается их частым упоминанием в публикациях на протяжении последних 10 лет. Согласно полученным данным, отмечается широкое применение в клиниках гемостатических губок отечественного производства (55%). Вероятно, это связано не столько с высокой эффективностью таких средств, сколько с их доступностью для региональных клиник, представители которых составили основную массу опрошенных. Низкий процент использования гемостатических средств (2%) приходится на гелевые композиции, которые на рынке изделий медицинского назначения представлены небольшим количеством различных вариантов (Рисунок 19).

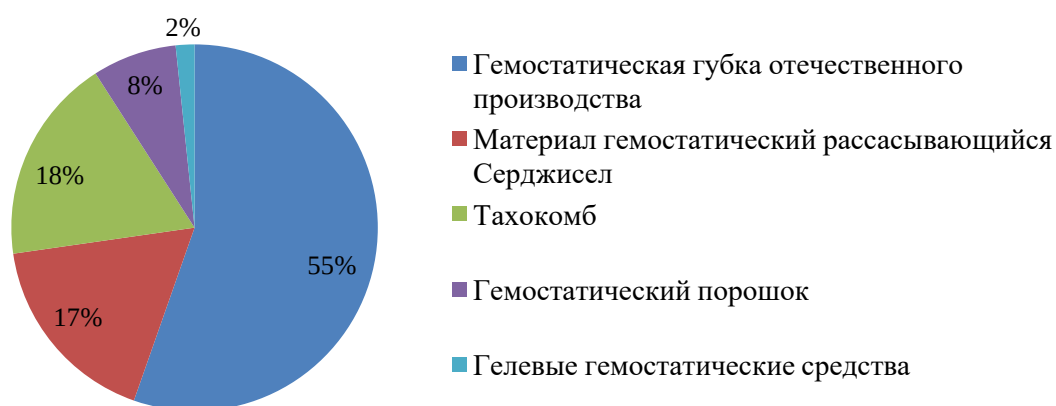


Рисунок 19 – Гемостатические средства, используемые респондентами, %

Особое внимание привлекает кластер вопросов относительно показаний к применению ГПКС. Так, по мнению 50% респондентов, такие средства предпочтительнее использовать в качестве основного метода остановки кровотечения при травме паренхиматозных органов I степени (по Е. Moore). В случаях травм I–III степени местные гемостатики могут быть использованы как дополнительный метод остановки кровотечения. При этом 42% респондентов считали, что кровоостанавливающим материалом необходимо укрыть гемостатический шов сверху после его наложения, 26% предлагали подложить ГПКС под шов, чтобы затянуть на нем узел, 10% полагали, что необходимо внедрить ГПКС в рану, и 22% пришли к мнению, что не имеет смысла совмещать

использование местного кровоостанавливающего средства с гемостатическим швом паренхиматозного органа.

Заключительная часть вопросов анкеты была посвящена оценке мнения респондентов относительно того, каким же должно быть идеальное ГПКС. Большинство респондентов сходятся во мнении, что гемостатический материал должен обладать такими свойствами, как антибактериальная активность (95%), апиригенность (60,9%), высокая адгезивная способность (58,6%), биodeградация в течение 5-10 суток (36,1%), кровоостанавливающий эффект в течение двух минут – 60% респондентов (5-10 минут – 27%). При этом 84% опрошенных считали, что скорость остановки кровотечения не имеет существенного значения, главное – это надежность остановки кровотечения (Рисунок 20).



Рисунок 20 – Распределение мнений респондентов по вопросу: «Какими свойствами, по вашему мнению, должно обладать идеальное ГПКС?», %

80% респондентов отмечали, что возможность моделирования (изменения его размеров и формы согласно параметрам раны) ГПКС интраоперационно является важным эксплуатационным свойством, а оптимальные размеры (длина, ширина, толщина) для гемостатического средства составляли 5х5х0,5 см. Для 92% респондентов важным критерием выбора является стоимость ГПКС (Рисунок 21).

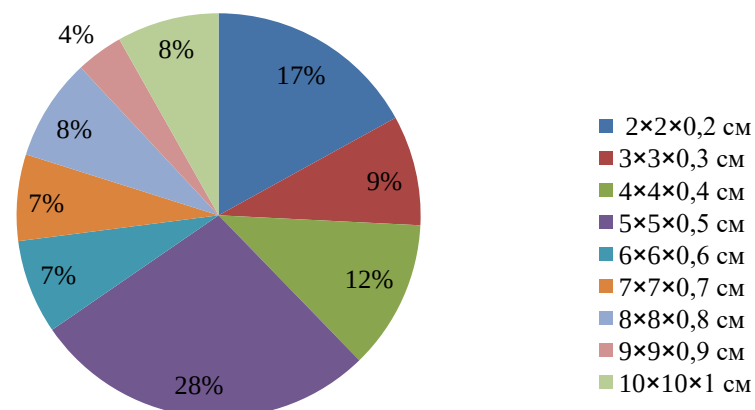


Рисунок 21 – Распределение мнений респондентов по вопросу: «Какими размерами (длина, ширина, толщина), по вашему мнению, должно обладать универсальное ГПКС?», %

Таким образом, согласно мнению опрошенных экспертов, использование ГПКС является одним из эффективных способов остановки кровотечения в хирургии паренхиматозных органов. Данный способ остановки кровотечения может быть использован в качестве основного (при травмах I степени, согласно классификации Е. Мооре, подкапсульная, стабильная гематома, которая занимает менее 10% поверхности органа, рана органа глубиной менее 1 см без продолжающегося кровотечения) или дополнительного метода остановки кровотечения (травмы I-III степени – подкапсульная, стабильная гематома, которая занимает более 50% поверхности, или подкапсульная, нестабильная гематома любого диаметра; подкапсульная гематома с разрывом и кровотечением; центральная, стабильная гематома более 2 см в диаметре; центральная, нестабильная гематома любого диаметра; рана глубиной более 3 см). Многие респонденты считали, что наибольшей эффективности остановки кровотечения можно добиться, используя местные кровоостанавливающие средства после наложения гемостатического шва, причем следует помещать ГПКС сверху или, наоборот, подложить ГПКС под шов, чтобы затянуть на нем узел.

* * *

В связи с вышесказанным, остается актуальным вопрос, рассмотренный нами

ранее, о разработке новых эффективных гемостатических материалов, обладающих выраженным местным кровоостанавливающим эффектом. Ценным является мнение опрошенных коллег относительно характеристик ГПКС, которое специалисты готовы использовать в клинической практике. По их мнению, ГПКС должно обладать антибактериальной активностью, апирогенностью, высокой адгезивной способностью, биodeградировать в течение 5-10 суток после введения в макроорганизм и останавливать кровотечение в течение двух минут, причем большинство респондентов считали, что главное – это надежность остановки кровотечения, а не скорость. Подобные выводы могут быть использованы специалистами-биотехнологами, фармацевтами в качестве ориентира при создании новых образцов гемостатических материалов, которые будут удовлетворять в первую очередь требованиям потребителя – оперирующего врача. А это позволяет надеяться также на доступность таких средств для большинства клиник и нуждающихся пациентов.

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ШОВНОГО МАТЕРИАЛА

Согласно полученным в ходе исследования результатам, которые представлены в виде таблиц, можно судить о том, что среднее $F_{\max}$, при котором произошло прорезывание паренхимы органа в процессе использования монофиламентного шовного материала, составило 65,20 Н при средней степени вытяжения нити 54,31 мм, которые являлись наименьшими значениями среди трех групп (Таблица 9-Таблица 10).

Таблица 9 – Показатели $F_{\max}$ (Н) исследуемых групп

Наименование групп	Монофиламентный шовный материал	Крученный шовный материал	Плетеный шовный материал
М	65,20	88,68	78,01
m	0,059	0,64	0,083
Me	65,21	81,24	78,02
p	*** $p_3 \leq 0,05$	** $p_2 \geq 0,05$	* $p_1 \leq 0,05$
25-й процентиль	65,18	81,22	78,0
75-й процентиль	65,31	89,93	79,56

Примечания:

* p_1 – достоверность отличия средних значений $F_{\max}$ образцов, ушитых плетеным шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым монофиламентными нитями.

** p_2 – достоверность отличия средних значений $F_{\max}$ образцов, ушитых крученым шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым плетеными хирургическими нитями.

*** p_3 – достоверность отличия средних значений $F_{\max}$ образцов, ушитых монофиламентным шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым кручеными нитями.

Таблица 10 – Показатели Lu (мм) исследуемых групп

Наименование групп	Монофиламентный шовный материал	Крученный шовный материал	Плетеный шовный материал
М	54,31	72,75	63,64
m	0,057	0,68	0,1
Me	54,41	72,54	63,77
p	***p3 ≤ 0,05	**p2 ≥ 0,05	*p1 ≤ 0,05
25-й процентиль	54,4	71,11	63,36
75-й процентиль	54,43	74,26	64,83

Примечания:

*p1 – достоверность отличия средних значений Lu образцов, ушитых плетеным шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым монофиламентными нитями.

**p2 – достоверность отличия средних значений Lu образцов, ушитых крученым шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым плетеными хирургическими нитями.

***p3 – достоверность отличия средних значений Lu образцов, ушитых монофиламентным шовным материалом, по отношению к образцам, ушитым кручеными нитями.

Полученные результаты позволяют утверждать, что наименее предпочтительным шовным материалом при операциях на печени является мононить. Однако возникает практическая необходимость во внедрении и апробации коэффициента, способного привести к стандартизации и научно обоснованному подбору шовного материала для выполнения того или иного оперативного пособия. Коллективом авторов в качестве такой величины разработан коэффициент прорезывания ($K_{пр}$), равный отношению F_{max} к Lu (значение должно быть ≥ 1). Это связано с тем, что в процессе затягивания узла шва показатель Lu увеличивается, при этом снижается площадь сечения нити и площадь ее соприкосновения с толщей паренхимы, что приводит к возрастанию риска прорезывания. Поэтому при операциях на печени шовным материалом выбора должны выступить нити, способные выдерживать высокую осевую нагрузку при незначительном вытяжении.

Согласно литературным данным [30] – при энергии удара 46,38-77,93 Дж повреждения печени не образуются; – при энергии удара 88,36-

192,88 Дж формируются кровоизлияния в паренхиме печени. Таким образом, минимальная энергия, необходимая для остановки кровотечения, составляет порядка 90 Дж. Использование известных табличных значений модуля Юнга для ткани печени (0,4-6 кПа) позволяет произвести расчет силы, приложенной к ткани печени (79,64 Н). А величина давления составит $4,42 \cdot 10^6$ Па.

$\Delta E = (Y \left[\Delta l \right]^2 S) / l_0$; $F = \Delta E / \Delta l = Y \Delta l S / l_0$ при условии воздействия на единичный отрезок длины и единицу площади печени.

Полученные в ходе эксперимента данные полностью соответствуют приведенным выше значениям. Так, остановка кровотечения фиксировалась при силе в 80 Н, что соответствует значению давления $4,44 \cdot 10^6$ Па.

$\left[P = (80 \text{ Н}) / r_d = (80 \text{ Н}) / (6 \cdot 10^{-2} \text{ м} \cdot 0,3 \cdot 10^{-3} \text{ м}) = 4,44 \cdot 10^6 \text{ Па} \right]$ при длине контура воздействия 6 см и толщине нити 0,3 мм. Давление в отдельно взятом сосуде составляет 40 мм. рт. ст., что соответствует величине 5332,9, выраженной в Па. Для остановки кровотечения необходимо приложить давление, превышающее величину в 40 мм рт. ст. Например, 50 мм рт. ст., что соответствует величине 6666,12 Па. Учитывая, что количество сосудов в печени составляет порядка 3 млрд. и каждый из сосудов действует как элемент системы, противодействующей внешнему воздействию, логично предположить, что величина силы для остановки кровотечения многократно возрастет в сравнении с силой воздействия на отдельный сосуд.

Для расчета результирующего давления в системе сосудов используем уравнение, представленное ниже, с учетом того факта, что область бифуркации образована сосудами с номерами $k = k_1, k_2, \dots, k_M$.

$p_k(S_k(t, x^k)) - p_{l \text{ node}}(t) = \varepsilon_k R_{lk} S_k(t, x^k) u_k(t, x^k)$, $k = k_1, k_2, \dots, k_M$, где R_{lk} — гидродинамическое сопротивление для сосуда в области бифуркации с индексом L . При этом для сосудов, входящих в область бифуркации, $\varepsilon_k = 1$, $x^k = L_k$ (выход из сосуда), в то время как для сосудов, исходящих из этой области, $\varepsilon_k = 1$, $x^k = 0$ (вход в сосуд). Здесь L_k — длина сосуда с индексом k . Считается также, что в областях бифуркаций сосудов отсутствует как приток, так

и потери крови. Решение данного уравнения позволяет рассчитать величину давления в системе сосудов и результирующую силу, необходимую для остановки кровотечения. При учете условия, что воздействию подвержены не только сосуды, но и окружающие ткани, величина силы воздействия на ткани оказывается равной 95 Н.

* * *

Таким образом, проведенное исследование позволяет выявить статистически значимые различия между монофиламентным и крученым/плетеным шовным материалом и поставить под вопрос целесообразность использования мононитей в процессе оперативного пособия на печени. Предложенный коэффициент прорезывания позволяет отказаться от эмпирического подхода к выбору шовного материала. Полученные результаты подчеркнули необходимость отказа от широкого применения гемостатических швов в пользу «бесшовных» методик остановки кровотечения в связи с невозможностью избежать травмы паренхимы и локальной ишемии при затягивании узла.

В целом же использование кровоостанавливающих швов при остановке кровотечения в настоящее время сочетается с размещением ГПКС как в качестве амортизатора при затягивании узла (во избежание дополнительной травмы паренхимы органа), так и совместное применение ГПКС с наложением швов для остановки паренхиматозного кровотечения. Поэтому остановка паренхиматозного кровотечения в современной хирургии представляет собой комбинацию различных методов и средств, дополняющих друг друга.

ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

5.1. Результаты измерения остаточной деформации после сжатия образцов

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 раза ниже, чем в группе № 4, в 2,29 раза 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 обладали комбинированные образцы с 15% содержанием коллагена (52,28%), что свидетельствует о низкой упругости образцов, что может негативно повлиять на результативность применения данного средства при выполнении оперативного вмешательства (Таблица 11).

При оценке остаточной деформации сжатия через 10 минут после прекращения компрессии наименьший результат также демонстрирует группа № 6 (средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar), чей показатель 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 (Таблица 12).

Изучение остаточной деформации сжатия на 30-й минуте после прекращения воздействия на объект показало, что наименьшая деформация характерна также для

образца № 6 (средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar). Данная группа продемонстрировала результат в 3,4 раза меньший, чем в группе № 1, в 4,2 раза меньший, чем в группе № 2, в 2,67 раза меньший, чем в группе № 3, в 1,18 раза меньший, чем в группе № 4, в 1,22 раза меньший, чем в группе № 5 и в 3,79 раза меньше, чем в группе № 7. Среди опытных групп наименьшей ОДС обладает группа № 3 с содержанием коллагена 50% (ОДС = 28,02%) (Таблица 13).

Изменения показателей толщины ГПКС в зависимости от времени, прошедшего после сжатия на 50% их толщины, могут свидетельствовать о том, что механические свойства тестируемых образцов зависят от их химического состава и структуры (пространственной организации пор, соотношения вещество-поры). Так, ГПКС группы №6 (Surgicel Fibrillar) обладали 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 (Рисунок 22-Рисунок 23).

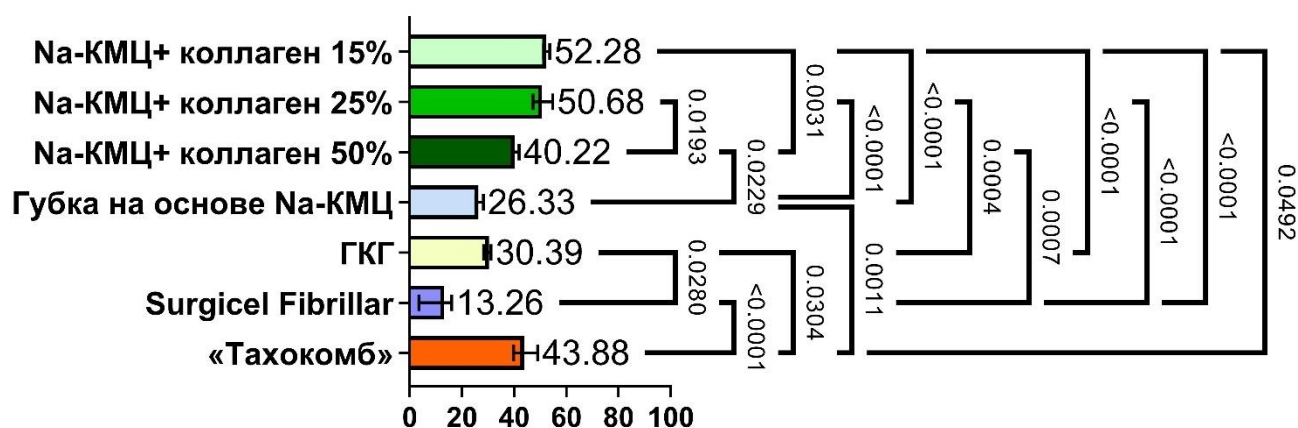


Рисунок 22 – Остаточная деформация образцов через 5 минут после сжатия на 50%, %

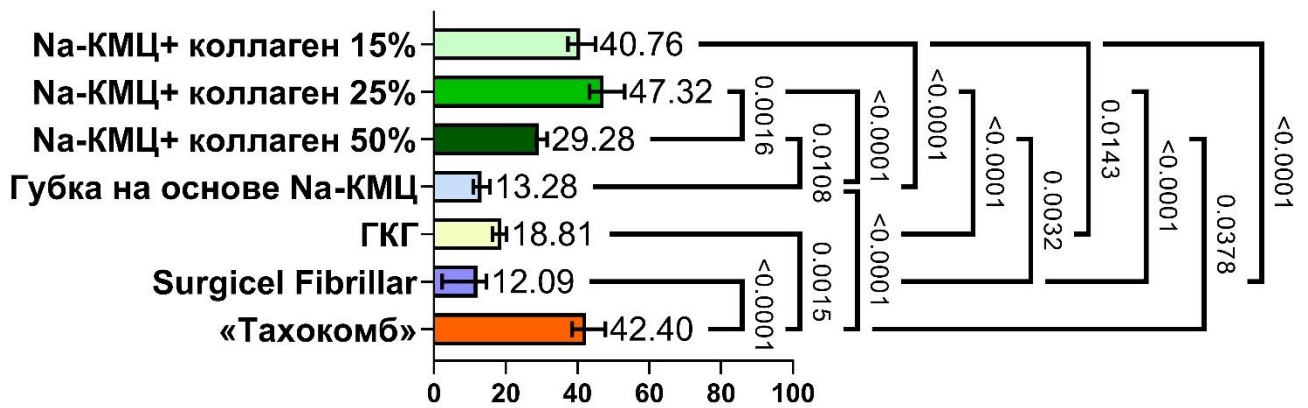


Рисунок 23 – Остаточная деформация образцов через 10 минут после сжатия на 50%, %

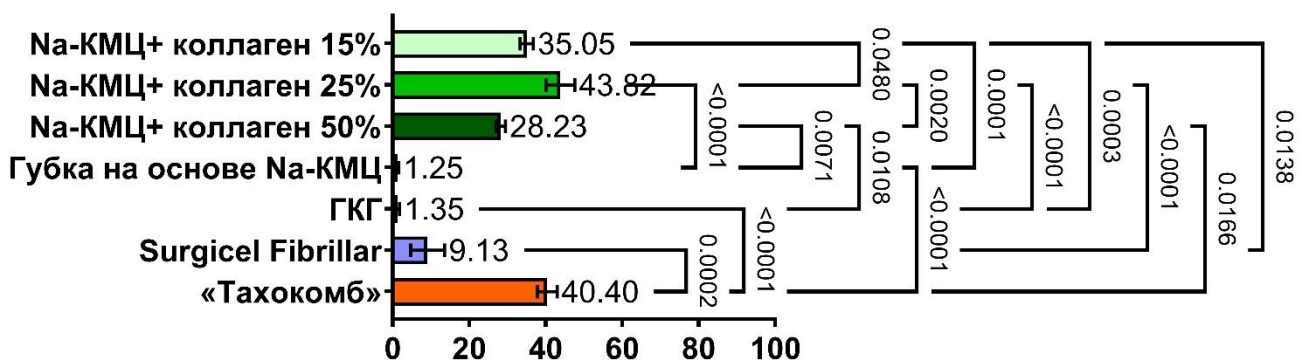


Рисунок 24 – Остаточная деформация образцов через 30 минут после сжатия на 50%, %

Таблица 11 – Остаточная деформация через 5 мин. после сжатия, %

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	52,28	51,94	52,6	52,31	0,6362	0,2012
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	50,68	49,29	52,65	50,8	2,418	0,7648
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	40,22	39,56	41,2	40,42	0,9263	0,2929
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	26,33	25,71	27,34	26,48	0,9641	0,3049
	Губка коллагеновая гемостатическая	30,39	28,99	30,58	29,99	0,9564	0,3024
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	13,26	10,69	15,12	12,19	4,082	1,291
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	43,88	43,01	47,41	44,62	2,928	0,926

Таблица 12 – Остаточная деформация через 10 мин. после сжатия, %

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	40,76	38,55	41,88	40,57	2,312	0,731
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	47,32	45,66	49,98	47,97	3,038	0,9607
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	29,28	28,73	31,51	29,76	1,256	0,3972

Продолжение Таблицы 12

Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	13,28	11,99	14,37	13,21	1,472	0,4656
	Губка коллагеновая гемостатическая	18,81	17,67	19,4	18,53	1,329	0,4202
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	12,09	8,603	13,99	10,62	4,543	1,437
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	42,4	41,53	45,84	43,08	2,801	0,8857

Таблица 13 – Остаточная деформация через 30 мин. после сжатия, %

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
ОПЫТ	Na-КМЦ+ коллаген 15%	35,57	32,93	36,46	35,05	1,729	0,5468
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	44,64	39,7	46,4	43,82	3,76	1,189
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	28,02	27,53	29,54	28,23	1,264	0,3996
КОНТРОЛЬ	Губка на основе Na-КМЦ	1,239	0,9266	1,49	1,254	0,3461	0,1094
	Губка коллагеновая гемостатическая	1,281	0,9871	1,768	1,35	0,4858	0,1536

Продолжение Таблицы 13

СРАВНЕНИЕ	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	10,46	7,044	12,38	9,127	4,415	1,396
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	39,72	38,64	43,19	40,4	2,599	0,8219

Таблица 14 – Остаточная деформация изучаемых образцов после их сжатия на 50%, %

	ОПЫТ			КОНТРОЛЬ		СРАВНЕНИЕ	
	Na-КМЦ+ коллаген 15%	Na-КМЦ+ коллаген 25%	Na-КМЦ+ коллаген 50%	Губка на основе Na-КМЦ	Губка коллаген- новая гемоста- тическая	Средство кровоостанав- ливающее Surgicel Fibrillar	Пластина кровоостанав- ливающая «Тахокомб»
Через 5 мин после сжатия	52,28	50,68	40,22	26,33	30,39	13,26	43,88
Через 10 мин после сжатия	40,76	47,32	29,28	13,28	18,81	12,09	42,4
Через 30 мин после сжатия	35,57	44,64	28,02	1,239	1,281	10,46	39,72

5.2. Результаты измерения сорбционных свойств исследуемых образцов

В результате оценки гидроскопичности получены следующие результаты. Наибольшей сорбционной способностью обладали образцы группы № 5 (губка коллагеновая гемостатическая) (Рисунок 1).

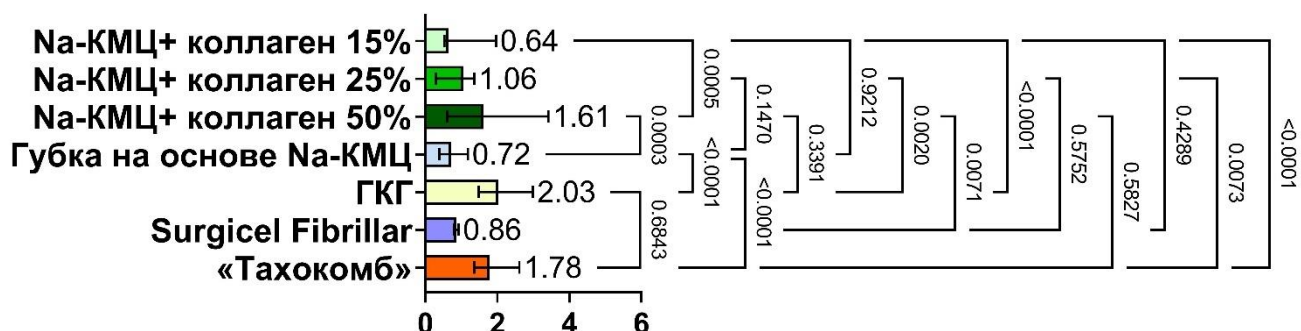


Рисунок 25 – Показатели гидроскопичности изученных образцов ГПКС, мл/см³

Коэффициент в данной группе выше в 3,15 раза в сравнении с группой № 1, в 1,92 раза выше, чем в группе № 2, в 1,26 раза выше, чем в группе № 3, в 2,82 раза выше, чем в группе № 4, в 2,37 раза выше, чем в группе № 5 и в 1,4 раза выше, чем в группе № 7. Среди опытной группы наилучшей сорбционной способностью обладали образцы группы № 3 (1,612). Данный показатель соответствует результатам испытания образцов, применяемых в клинике в настоящее время. Это позволяет судить об удовлетворительной сорбционной способности разработанных изделий (Таблица 15).

Таблица 15 – Результаты измерения гидроскопичности исследуемых образцов, мл/см³

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	0,6432	0,5978	0,8542	0,8045	0,4314	0,1364
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	1,057	0,7713	1,209	0,9761	0,322	0,1018
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	1,612	1,222	2,392	1,819	0,834	0,2637
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	0,719	0,5282	0,9104	0,7289	0,2331	0,07372
	Губка коллагеновая гемостатическая	2,03	1,727	2,21	2,051	0,4163	0,1317
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	0,855	0,8075	0,9025	0,858	0,04872	0,01541
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	1,78	1,493	2,165	1,871	0,4413	0,1396

5.3. Результаты изучения полной пористости образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Сравнения величины показателя полной пористости изученных в эксперименте образцов ГПКС и значимость статистических отличий между экспериментальными группами демонстрирует Рисунок 26. Обнаружены статистически значимые отличия полной пористости разработанных ККС и образцов контрольных групп и групп сравнения.

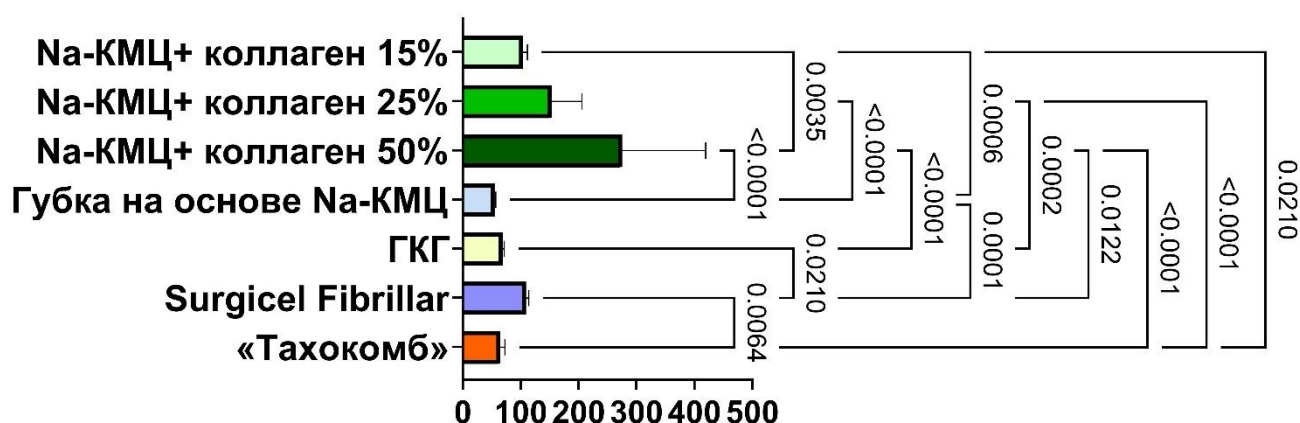


Рисунок 26 – Показатель полной пористости изученных в эксперименте образцов ГПКС, мл/см³

При увеличении концентрации коллагена в образце увеличилась и его полная пористость: между образцом с 15% содержанием коллагена (104 [91,51; 110,8]) и с 25% содержанием (153,6 [91,51; 110,8]) на 47,69%. При увеличении концентрации коллагена в образце его полная пористость между образцом с 25% содержанием коллагена (153,6 [91,51; 110,8]) и с 50% содержанием (275,1 [256; 399,3]) увеличилась на 79,1% (Таблица 16).

Таблица 16 – Показатель полной пористости образцов ГПКС, мл/см³

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	104	91,51	110,8	102,3	11,81	3,734
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	153,6	136,7	203,8	163,9	30,93	9,78
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	275,1	256	399,3	312,9	91,85	29,05
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	54,9	53,41	56,89	54,71	2,112	0,6679
	Губка коллагеновая гемостатическая	68,71	62,7	71,31	67,34	4,539	1,435
Сравнение	Средство кровоостанавлива ющее Surgicel Fibrillar	109	103,6	112,5	108,5	4,731	1,496
	Пластина кровоостанавлива ющая «Тахокомб»	64,94	56,81	71,65	63,05	10,12	3,199

5.4. Результаты изучения кислотности образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Сравнительный анализ показателей pH, полученных в результате изучения ГПКС, и статистическая значимость выявленных отличий между группами исследований отражены на рисунке 27.

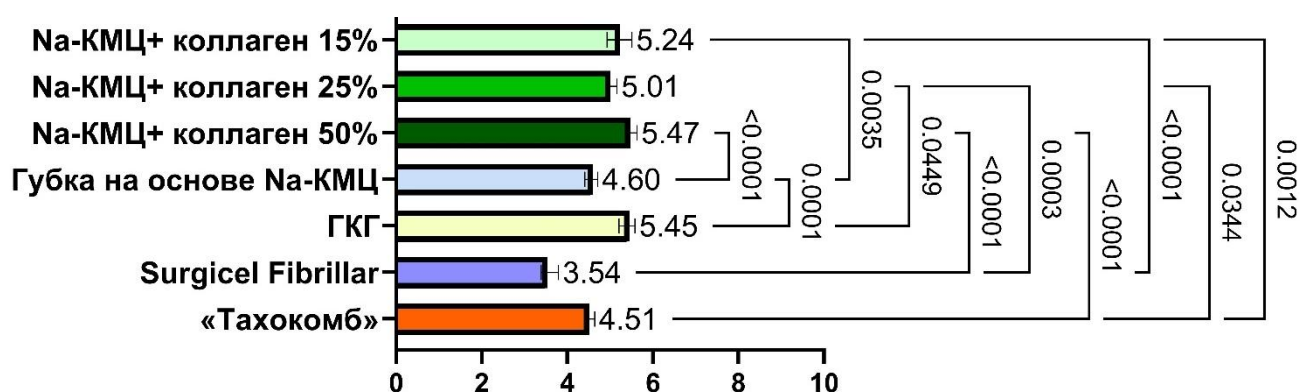


Рисунок 27 – Результаты pH-метрии изучаемых образцов ГПКС

При изучении водородного показателя в исследуемых группах получены следующие результаты. Наибольшей pH обладали образцы группы № 3. Показатель в данной группе незначительно выше, чем в группах № 1 5,235 [5,05; 5,51], № 2 5,005 [4,958; 5,130], № 5 5,450 [5,225; 5,565]. При этом образцы группы № 3 по уровню pH в 1,19 раза выше, чем в группе № 4, в 1,6 раза выше, чем в группе № 6 и в 1,21 раза выше, чем в группе № 7. Минимальным значением уровня pH отличались образцы группы 6 – 3,535 [3,398; 3,730]. Высокая кислотность средства обусловлена химическим составом (окисленная целлюлоза) и может явиться причиной более выраженной реакции тканей в связи с их химическим повреждением. Полученные значения pH в соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» и указаниями в фармакопейной статье находятся в диапазоне от 4,5 до 7,5 за исключением показателя средства Surgicel Fibrillar: 3,535 [3,398; 3,730]. Показатель, полученный в опытных группах, соответствует требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания относительно губчатых кровоостанавливающих средств [11] (Таблица 17).

Таблица 17 – Результаты рН-метрии водной вытяжки изучаемых образцов ГПКС

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	5,235	5,05	5,51	5,259	0,2646	0,08369
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	5,005	4,958	5,13	5,036	0,1048	0,03314
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	5,47	5,375	5,593	5,471	0,1438	0,04547
Контроль	Губка на основе Na- КМЦ	4,595	4,47	4,703	4,594	0,141	0,04458
	Губка коллагеновая гемостатическая	5,45	5,225	5,565	5,413	0,1632	0,0516
Сравнение	Средство кровоостанавливаю щее Surgicel Fibrillar	3,535	3,398	3,73	3,56	0,1881	0,0595
	Пластина кровоостанавливаю щая «Тахокомб»	4,51	4,428	4,61	4,517	0,1112	0,03515

5.5. Результаты исследования силы адгезии образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств к брюшине

При сравнительном анализе исследуемых образцов ГПКС получены следующие результаты. Наибольшей силой адгезии обладали образцы группы № 1 (2,705 Н). Показатель в данной группе в 2,8 раза выше, чем в группе № 2, в 1,9 раза выше, чем в группе № 3, в 3,7 раза выше, чем в группе № 4, в 4,83 раза выше, чем в группе № 5, в 10,8 раза выше, чем в группе № 6, и в 5,1 раза выше, чем в группе № 7. Статистически значимые отличия ($p \leq 0,05$) выявлены между группами № 1 и № 2 – 7, между группами № 2 и № 3 – 7, между группами № 3 и № 4 – 7 (Рисунок 28).

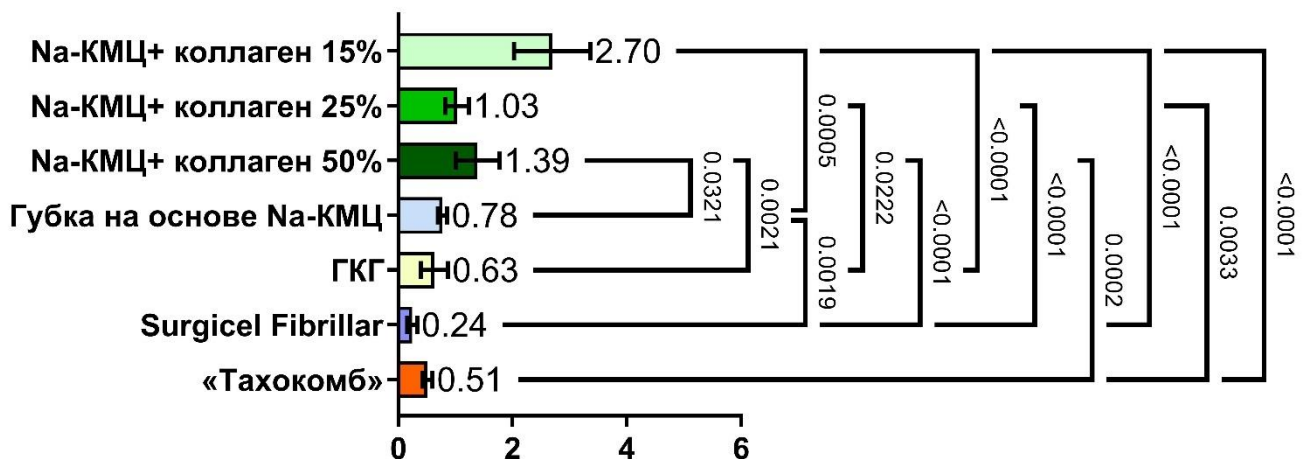


Рисунок 28 – Результаты изучения силы адгезии исследуемых образцов ГПКС, Н

Согласно полученным результатам, образцы опытных групп продемонстрировали наибольшие значения силы адгезии, которая является одним из основополагающих свойств местных кровоостанавливающих средств, обеспечивающих их бесшовную фиксацию к раневой поверхности. Данные результаты позволяли также опосредованно судить о высокой гемостатической эффективности разработанных средств. Максимальный показатель силы адгезии у образцов первой группы связан с соотношением полимеров в составе (85% Na-КМЦ, 15% коллаген). Натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы обладает более высокой адгезивностью, чем коллаген. Этот факт подтвердили статистически

значимые отличия, обнаруженные между группами № 4 (губка на основе Na-КМЦ) и № 5 (губка коллагеновая гемостатическая). Таким образом, добавление незначительного количества коллагена в состав гемостатической губки усилило эффект адгезии, вероятно, за счет стабилизации и пластификации губчатой структуры изделия. Однако увеличение концентрации коллагена до 25% или 50% практически не оказывает влияния на данный показатель (Таблица 18).

Таблица 18 – Определение степени адгезии образцов ГПКС к брюшине, Н

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%	2,705	1,928	3,18	2,697	0,6707	0,2121
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	0,97	0,885	1,118	1,028	0,2063	0,06525
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	1,4	0,9875	1,69	1,389	0,3814	0,1206
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	0,74	0,705	0,86	0,776	0,08343	0,02638
	Губка коллагеновая гемостатическая	0,56	0,4475	0,85	0,63	0,2397	0,07579
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	0,25	0,175	0,315	0,242	0,08561	0,02707
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	0,53	0,4275	0,5875	0,512	0,08842	0,02796

5.6. Результаты исследования структуры образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Результаты изучения структурных свойств образцов ГПКС отражены на нижеприведенных рисунках и в таблицах.

В большинстве своем изученные образцы представляют собой губку, состоящую из хаотично распределенных в ее структуре волокон и равномерно распределенных в их толще воздушных микрополостей (Рисунок 30 А-Д; Рисунок 32 А-Д).

Структура некоторых образцов обнаруживает тенденцию к формированию волокнистых тяжей (Рисунок 30 А, Г, Д).

Средство кровоостанавливающее «Surgicel Fibrillar» представляет собой многослойную вязаную структуру, состоящую из полифиламентных волокон (Рисунок 30 Е, Рисунок 32 Е).

Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб» представляет собой коллагеновую губку почти белого цвета с желтым сухим покрытием на одной стороне, содержащим фибриноген и тромбин. Монолитная, неравномерно бугристая поверхность пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» имеет желтый цвет и хаотично распределенные поры (Рисунок 30 Ж, Рисунок 32 Ж).

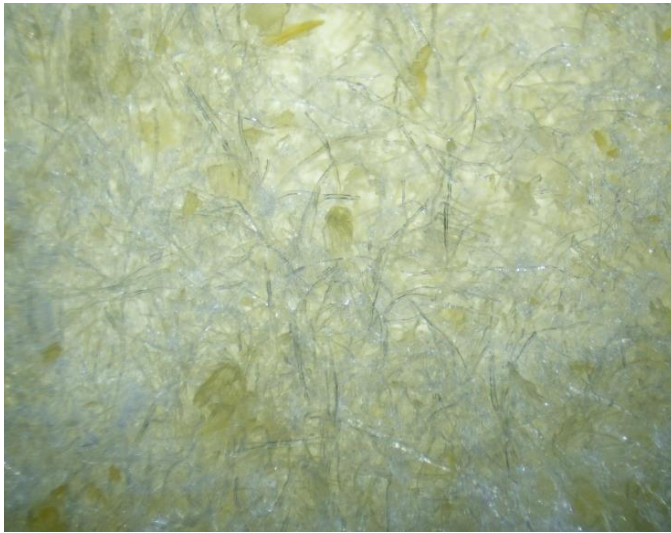
Коллагенсодержащий губчатый слой (основа ГПКС) представляет собой мелковолокнистую структуру, состоящую из хаотично распределенных волокон (Рисунок 30 З).



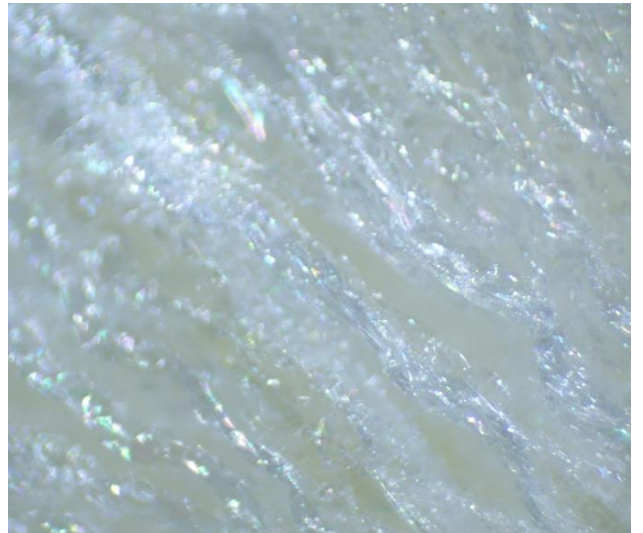
А



Б

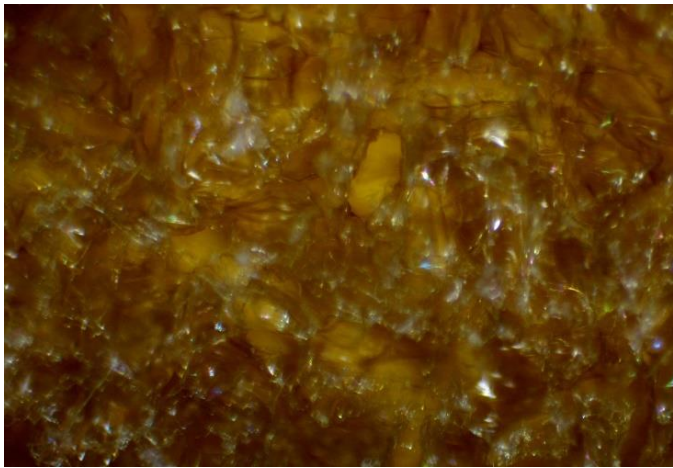


В

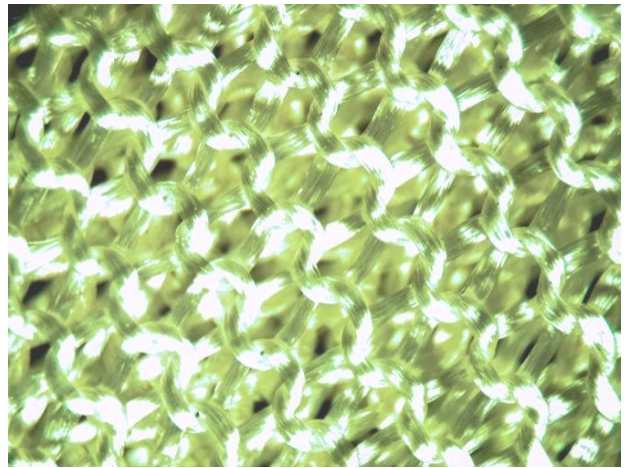


Г

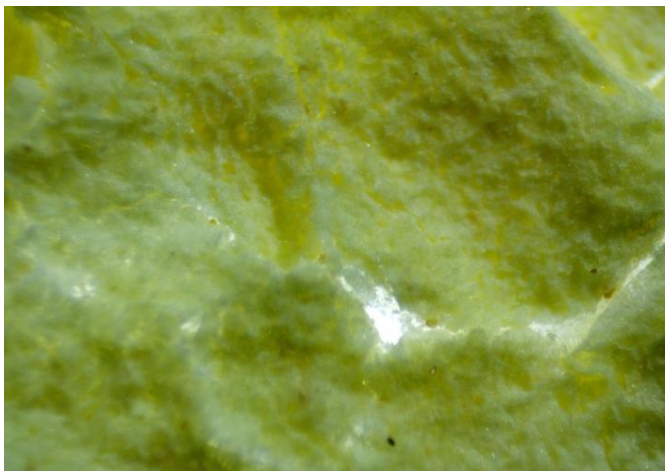
Рисунок 29 – Микрофотография. Результат световой микроскопии исследуемых образцов: А – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 15%), Б – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 25%), В – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 50%), Г – губка на основе Na-КМЦ. Ув. x10



Д



Е

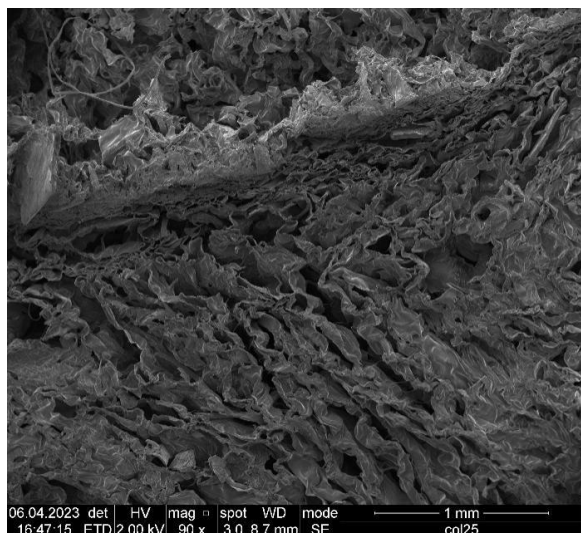


Ж

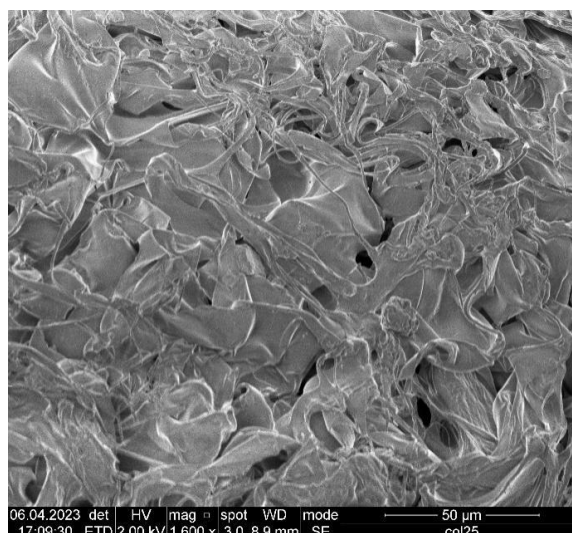


З

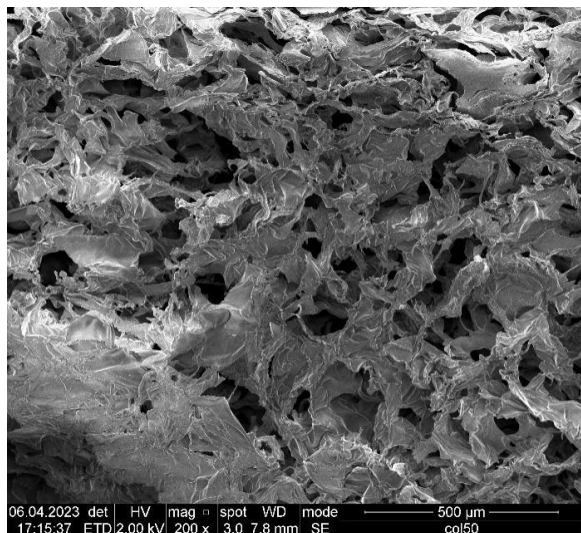
Рисунок 30 (продолжение) – Микрофотография. Результат световой микроскопии исследуемых образцов: Д – губка коллагеновая гемостатическая, Е – средство кровоостанавливающее «Surgicel Fibrillar», Ж – «рабочая сторона» пластины кровоостанавливающей «Тахокомб», З – ее обратная сторона (коллагеновая нетканая основа). Ув. x10



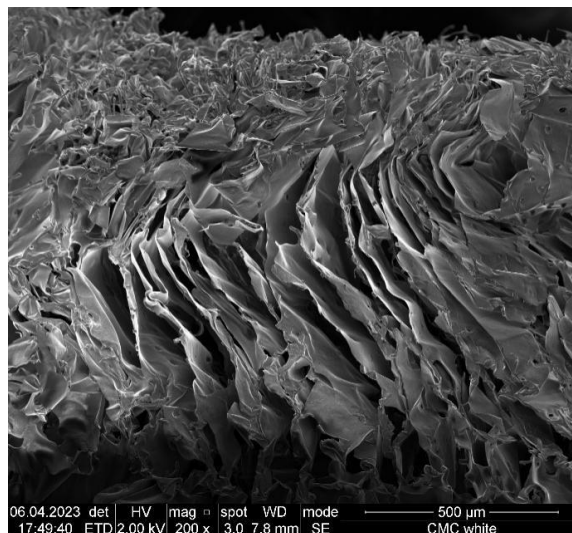
А



Б



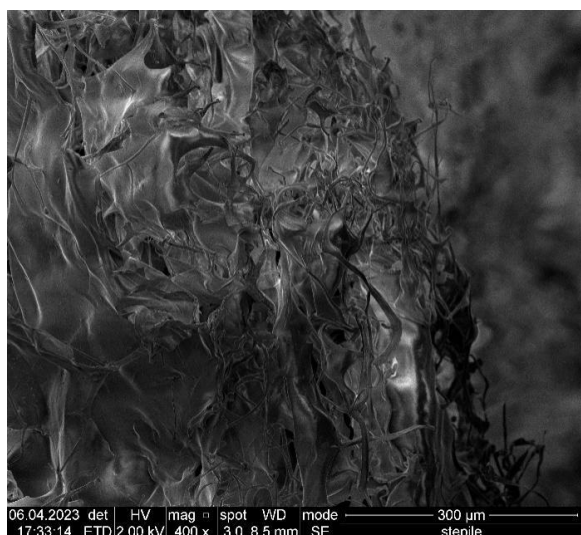
В



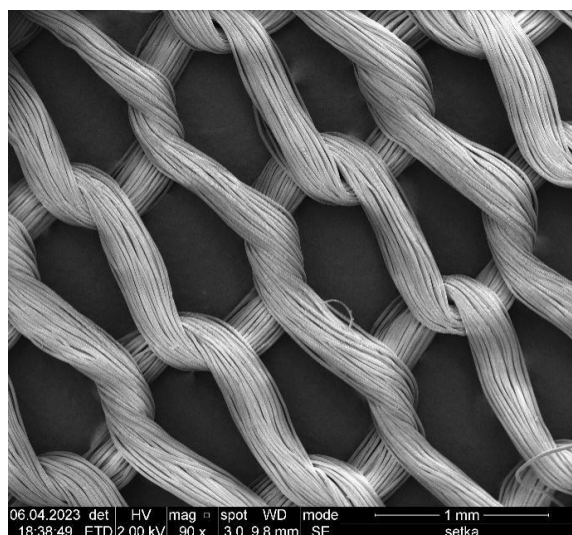
Г

Рисунок 31 – Микрофотография. Результат электронной микроскопии исследуемых образцов:

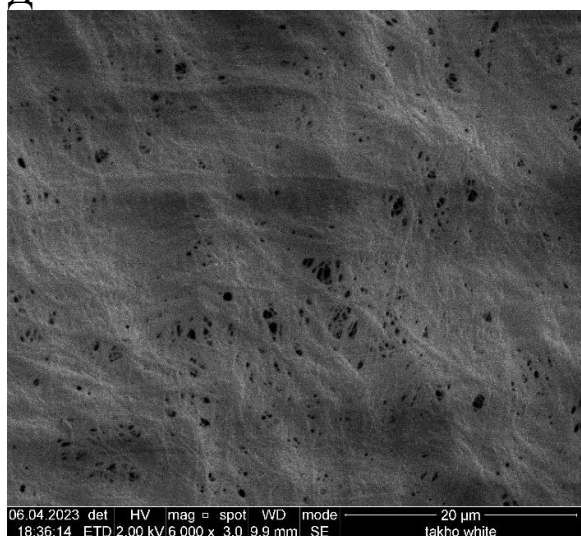
- А – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 15%). Ув. х90;
- Б – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 25%). Ув. х1600;
- В – губка кровоостанавливающая комбинированная (Na-КМЦ+ коллаген 50%). Ув. х200;
- Г – губка на основе Na-КМЦ. Ув. х200



Д



Е



Ж

Рисунок 32 (продолжение) – Микрофотография. Результат электронной микроскопии исследуемых образцов:

Д – губка коллагеновая гемостатическая. Ув. х400;

Е – средство кровоостанавливающее «Surgicel Fibrillar». Ув. х90;

Ж – «рабочая сторона» пластины кровоостанавливающей «Тахокомб». Ув. х6000.

Что касается толщины волокон, то наибольшим показателем обладали образцы группы № 3: в 1,9 раза выше, чем в группе № 1, в 2,56 раза выше, чем в группе № 2, в 1,35 раза выше, чем в группе № 4, в 1,87 раза выше, чем в группе № 5, в 2,28 раза выше, чем в группе № 6, и в 2,08 раза выше, чем в группе № 7.

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

предполагать более выраженную гемостатическую активность образцов группы № 3 в сравнении с контрольной и другими опытными группами (Рисунок 33).

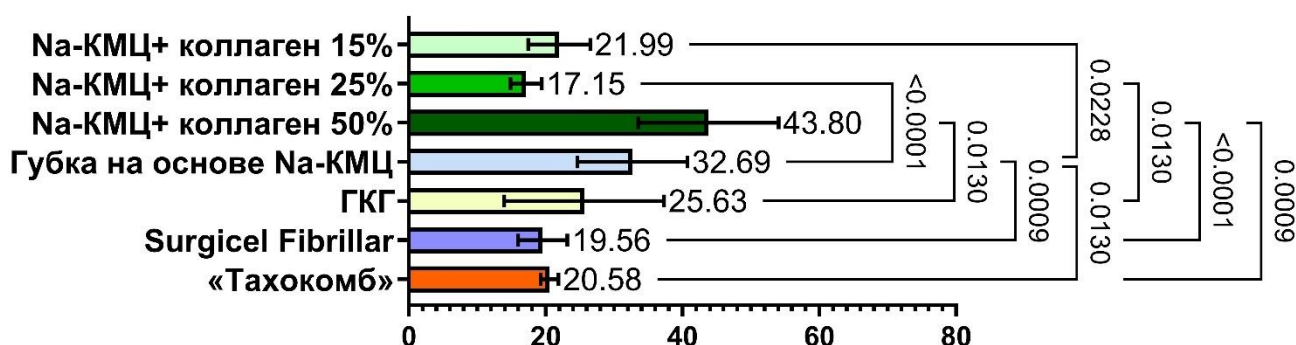


Рисунок 33 – Толщина волокон изучаемых образцов ГПКС, мкм

При изучении структуры образцов наиболее высокая площадь пор выявлена в образцах группы № 1 (1,215), что в 1,45 раза выше, чем в группе № 2, в 2,7 раза выше, чем в группе № 3, в 1,15 раза выше, чем в группе № 4, в 1,25 раза выше, чем в группе № 5, в 2,66 раза выше, чем в группе № 6, и в 1,24 раза выше, чем в группе № 7.

Полученные результаты определения площади пор позволяют судить о том, что образцы опытной группы обладали большей площадью пор, чем в группах контроля и сравнения, что опосредованно позволяет судить о более выраженной гемостатической активности (за счет большей поверхности контакта жидкой фазы крови и твердой фазы губки и, следовательно, большей гидроскопичности образцов опытной группы) (Рисунок 34).

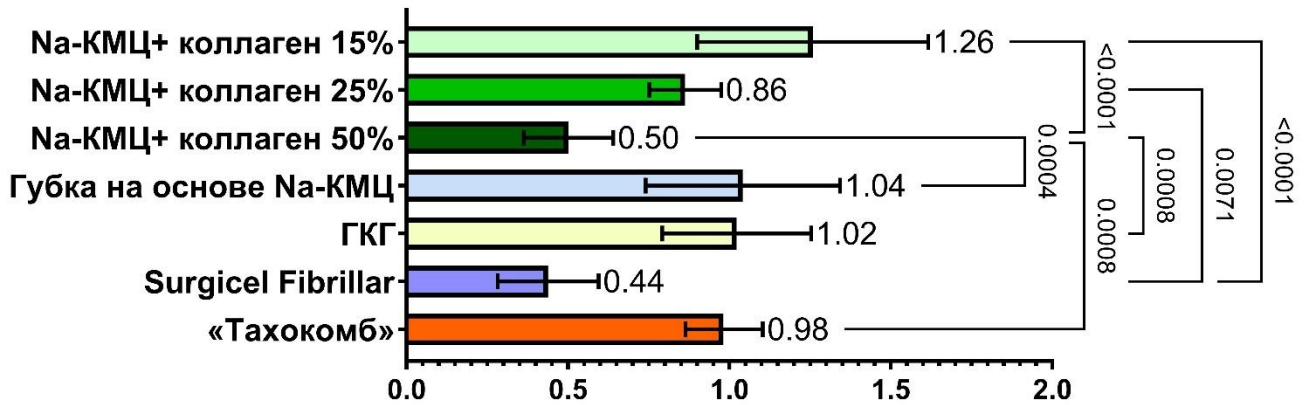


Рисунок 34 – Размер пор изучаемых образцов ГПКС, мкм²

* * *

Оцененные в данной главе физико-механические, морфологические и химические свойства позволяют в сравнительно аспекте рассмотреть данные образцы. Самые низкие показатели ОДС, среди разработанных ГПКС, зафиксированы в группе Na-KMЦ+коллаген 50%, что указывает на самую высокую пористость данных образцов. Эти же образцы имели и максимальную сорбционную способность. Однако, увеличение этих позитивных свойств, способствующих остановке кровотечения, образцы Na-KMЦ+коллаген 50% имели меньшую по сравнению с образцами группы Na-KMЦ+коллаген 15% адгезивную способность. Образцы всех групп разработанных ГПКС обладали более высокими значениями адгезии к брюшине по сравнению с образцами, используемыми для этих целей в клинической практике. Оценка структурных особенностей поверхности также показала преимущества образцов групп Na-KMЦ+коллаген: обнаружены более высокие значения площади пор, чем в других группах.

ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ИЗУЧАЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

6.1. Результаты исследования влияния тестируемых образцов на время свертывания крови в эксперименте *in vitro*

Коагулологические и гемостатические свойства лежат в основе эффективности ГПКС. Время свертывания крови в присутствии опытных образцов оказалось минимальным и отличалось статистически значимо как от контрольных групп, так и от групп сравнения (Рисунок 35).

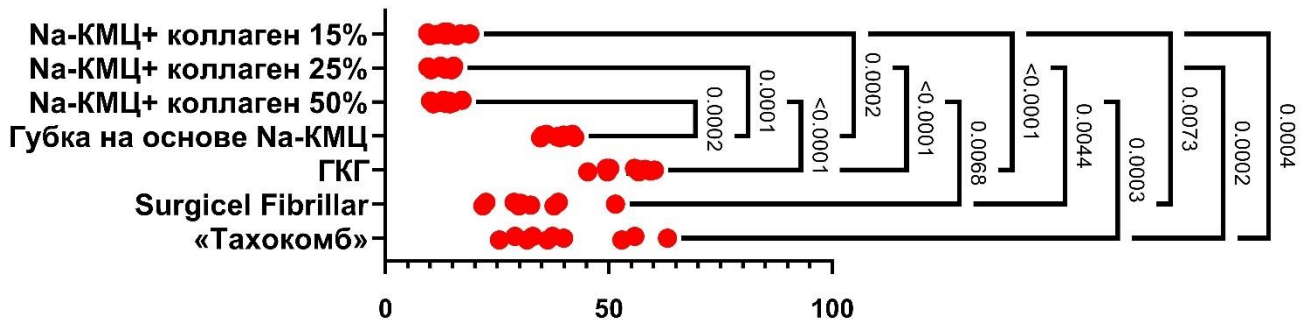


Рисунок 35 – Изменения времени свертывания крови под влиянием присутствия образцов изучаемых ГПКС, с

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 в связи с физиологической ролью. При этом не обнаружено статистически значимых отличий между временем свертывания донорской крови в опытных группах, где использовались образцы с различным содержанием морского коллагена в гемостатическом материале. Данный факт

свидетельствует об отсутствии дозозависимости в отношении коагуляции, по крайней мере, в том диапазоне концентраций морского коллагена, которые использовались в данной работе. Даже 15% концентрация коллагена морского происхождения в губчатом средстве, статистически значимо по отношению ко всем другим изученным образцам ускоряла процесс свертывания крови *in vitro*.

6.2. Результаты исследования эффективности образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств в остром эксперименте *in vivo*

В остром опыте на модели травмы печени показано, что опытные образцы ГПКС в большинстве исследований были не только сопоставимы по выраженности кровоостанавливающего эффекта (время кровотечения и объем кровопотери) с образцами из групп контроля и сравнения ($p < 0,05$), но и превосходили их по эффективности (Рисунок 36-Рисунок 37).

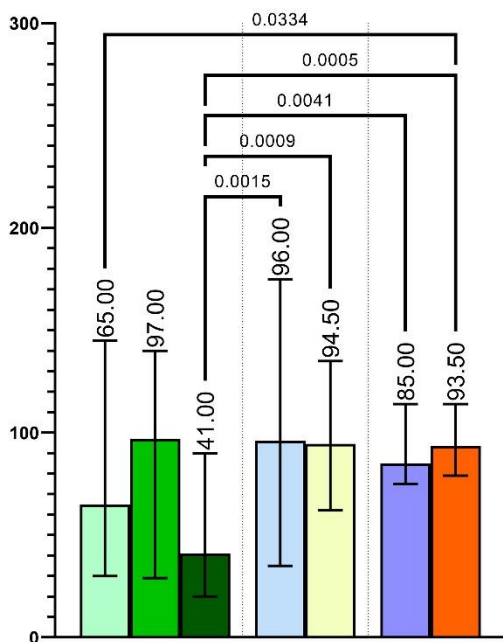


Рисунок 36 – Влияние применения изучаемых образцов ГПКС на время кровотечения на модели травмы печени, с

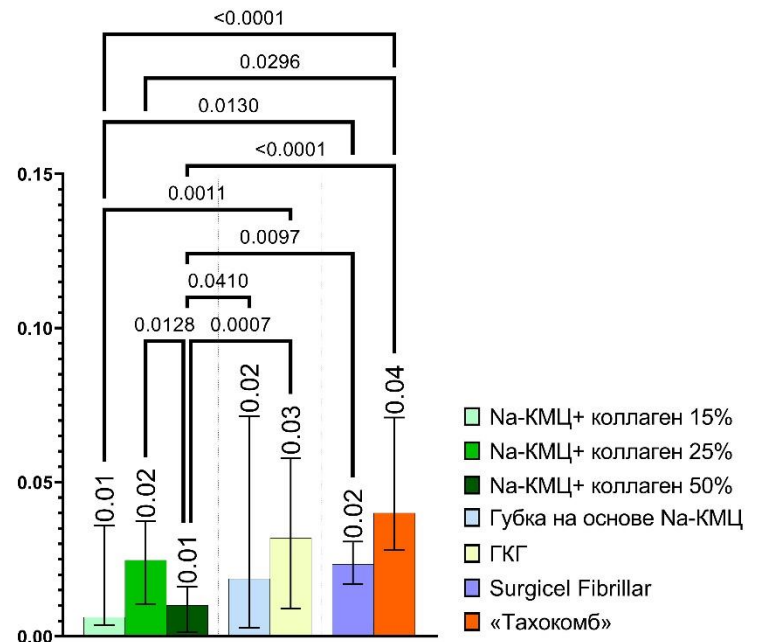


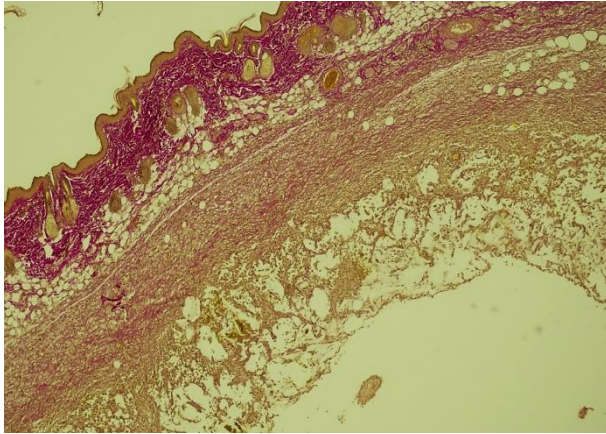
Рисунок 37 – Влияние применения изучаемых образцов ГПКС на объем кровопотери на модели травмы печени, г

Так опытный образец, содержащий в своем составе 15% коллагена, статистически значимо ускорял время, требуемое для остановки кровотечения, по сравнению с ГКГ и Тахокомбом; уменьшал объем кровопотери, по сравнению с ГКГ, образцами Surgicel Fibrillar и Тахокомб. Опытные образцы, содержавшие 25% и 50% коллагена, статистически значимо ускоряли время, требуемое для остановки кровотечения и объем кровопотери, по сравнению со всеми выбранными в качестве контрольных образцами.

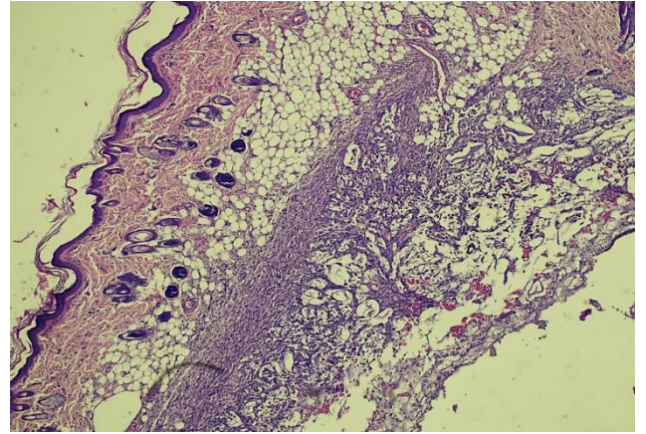
ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ НА ПОДКОЖНОЕ РАЗМЕЩЕНИЕ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

7.1. Гистологическая картина изменений в зоне размещения образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

При аутопсии и заборе материала макроскопически у всех животных первой серии (Na-КМЦ+коллаген 15%) исследования визуально обнаружено утолщение тканей в области стояния ГПКС. При последующей микроскопии на малых увеличениях оптической системы микроскопа в центре зоны размещения ГПКС обнаруживались разноразмерные скопления материала образца, окруженные по всему периметру приблизительно равномерной толщины волокнистой капсулой. Эти скопления имели разные размеры у животных этой группы (Рисунок 38) и разделены клеточно-волокнистыми трабекулами, состоящими из пучков молодых коллагеновых волокон, преимущественно юных фибробластов, лимфоцитов и макрофагов. В волокнистой капсуле в наружном ее слое преобладали зрелые коллагеновые волокна (Рисунок 39). Иными словами, структура капсулы напоминает серию исследования с введением губки, состоящей только из Na-КМЦ (4-я серия).



А



Б

Рисунок 38 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 15%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40.

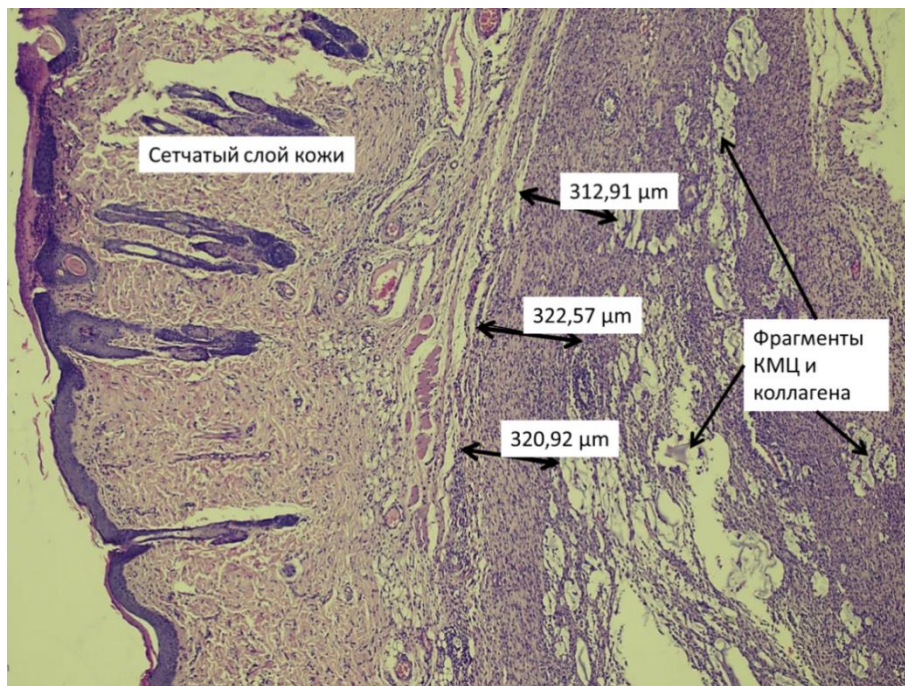
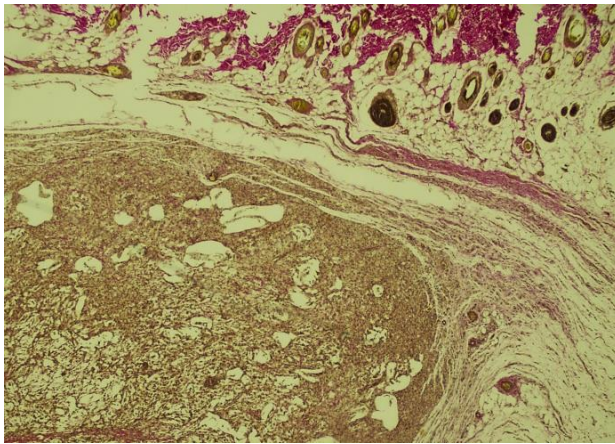
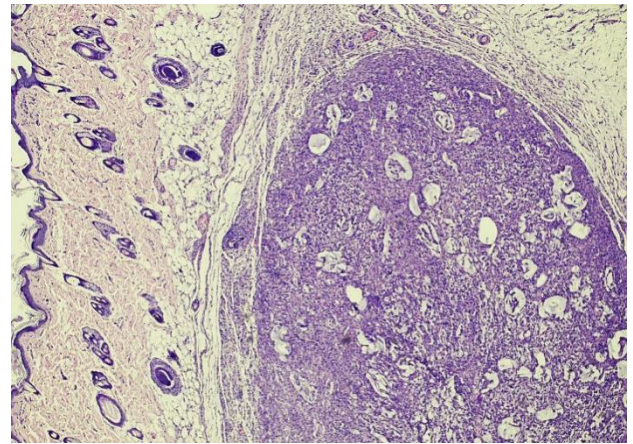


Рисунок 39 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+ коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40.

На 14-е сутки наблюдения у всех животных в этой группе скопления материала ГПКС образовали более плотную структуру (Рисунок 40), количество долек с остатками Na-КМЦ и коллагена существенно уменьшается, а разделяющие их трабекулы капсулы фактически состоят в основном из коллагеновых волокон (Рисунок 41).



А



Б

Рисунок 40 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 15%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

Толщина капсулы по всему периметру существенных отличий от предыдущего срока наблюдения не имеет.

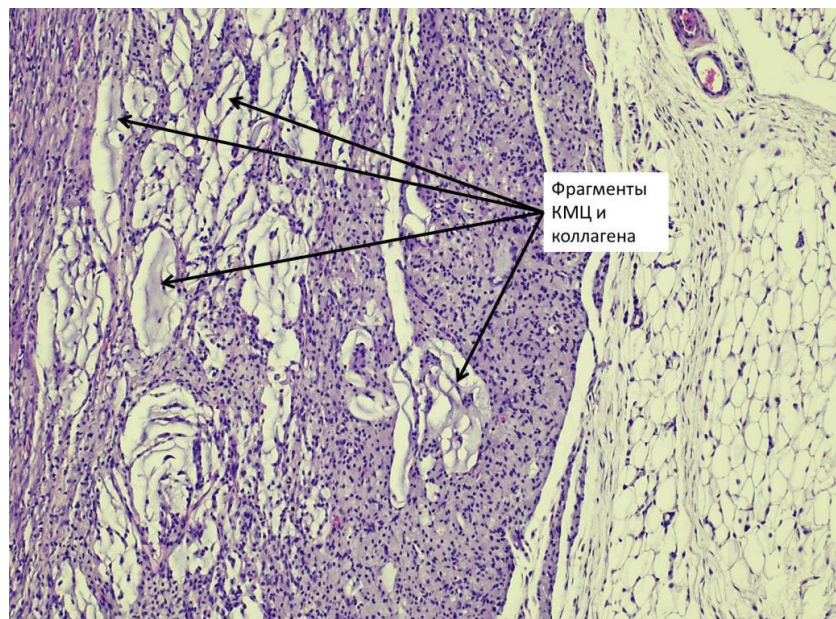


Рисунок 41 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х100

Качественный состав клеточной популяции также существенных изменений не претерпел. Очевидное большинство в популяции составляли клетки фибробластического дифферона: в основном зрелые фибробласты и фиброциты; в меньшей степени присутствовали лимфоциты и макрофаги (Рисунок 42).

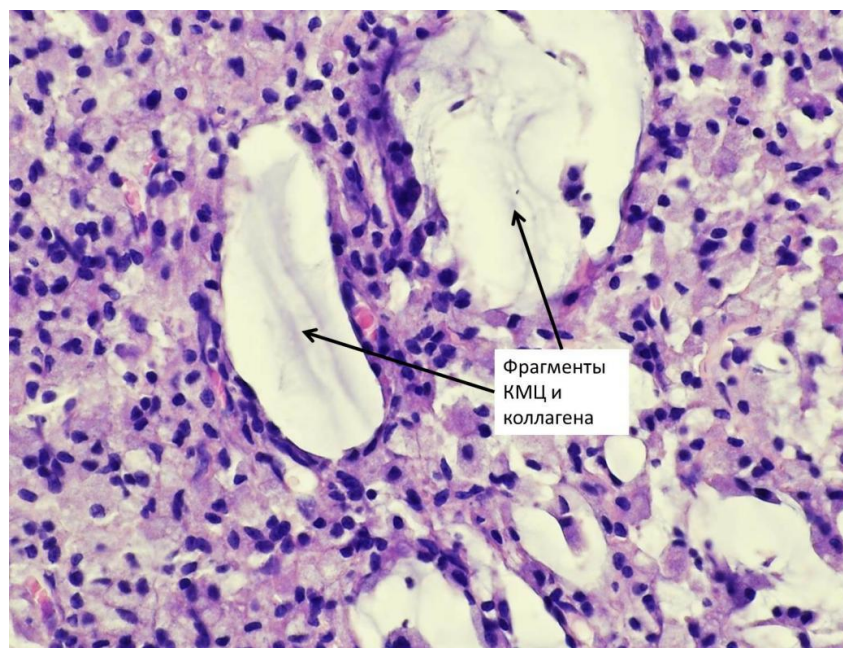


Рисунок 42 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x400

На 28-е сутки наблюдения в этой серии исследования отмечается существенное увеличение толщины капсулы до размеров, в 2-3,5 раза превышающих таковые на предыдущем сроке наблюдения (Рисунок 43).

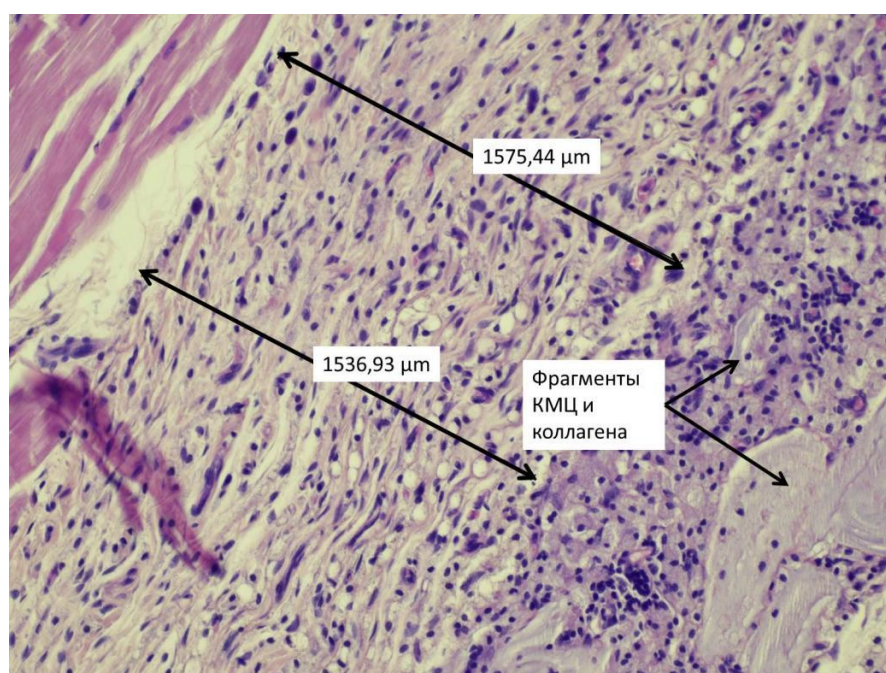


Рисунок 43 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x200.

Также происходит увеличение размерности трабекул, разделяющих очаги нерезорбированного ГПКС и остатки Na-КМЦ/коллагена. Несмотря на это статистически значимых отличий в составе клеточной популяции указанных трабекул нет. Как и на предыдущем сроке наблюдения, очевидное большинство составляли фибробласты, лимфоциты и существенно меньшее количество макрофагов (Рисунок 44).

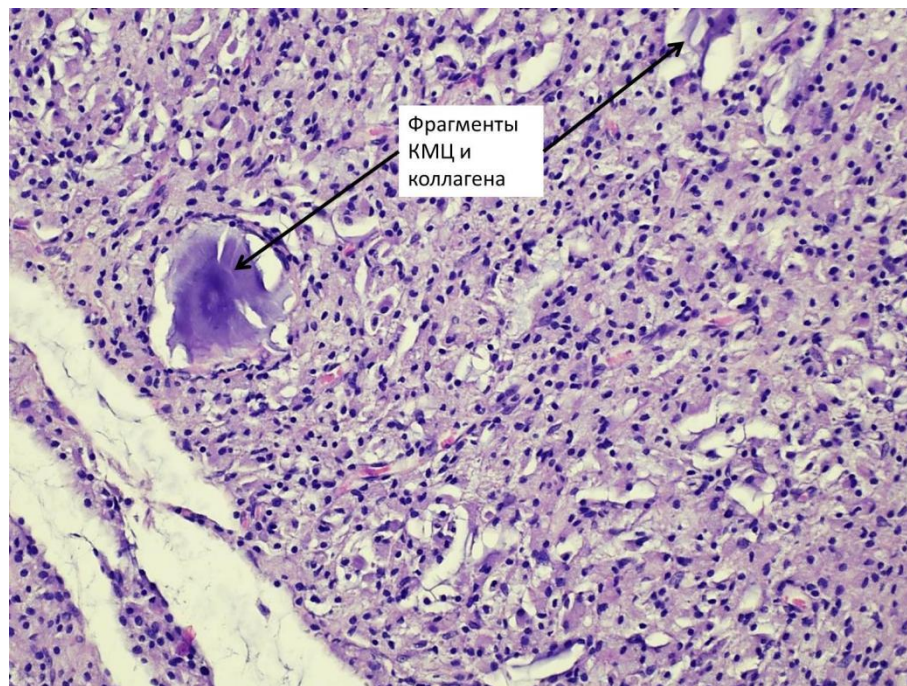
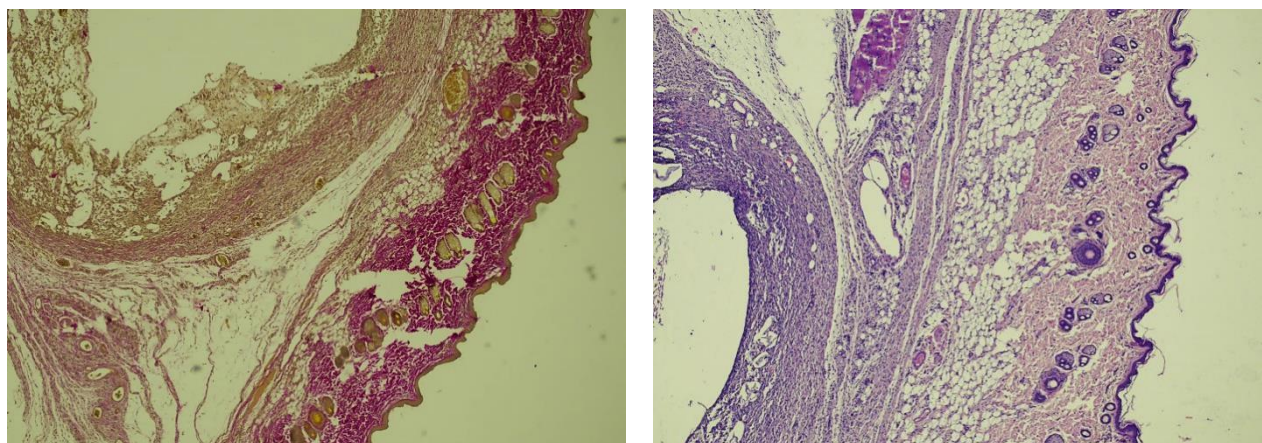


Рисунок 44 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

При заборе материала для гистологического исследования у всех животных во 2-й группе (Na-КМЦ+ коллаген 25%) обнаружено утолщение в зоне размещения ГПКС. При последующем микроскопировании вокруг ГПКС обнаружена двухслойная капсула без отчетливо видимой границы между слоями (Рисунок 45 А, Б). При селективной окраске на коллаген в большем по толщине наружном волокнистом слое капсулы обнаружены коллагеновые волокна, преимущественно зрелые (Рисунок 45 А). Клеточный слой капсулы тоньше, и в него инкорпорированы остатки ксеногенной структуры: коллагена и Na-КМЦ (Рисунок 46). Размеры волокнистого слоя капсулы в сравнении на разных сроках

наблюдения представлены в таблице и на диаграммах в конце подглавы.



А

Б

Рисунок 45 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + collagen 25%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. x40

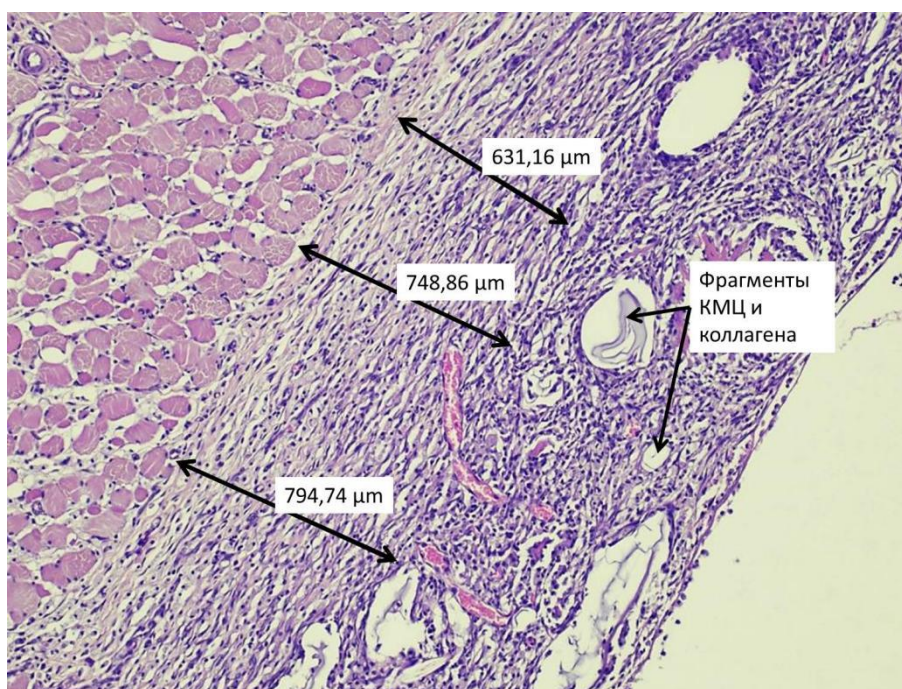
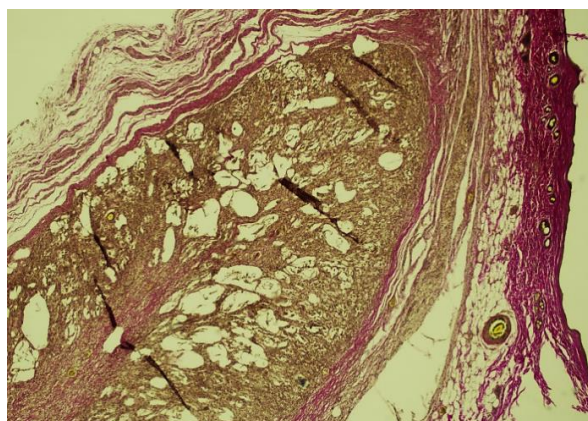


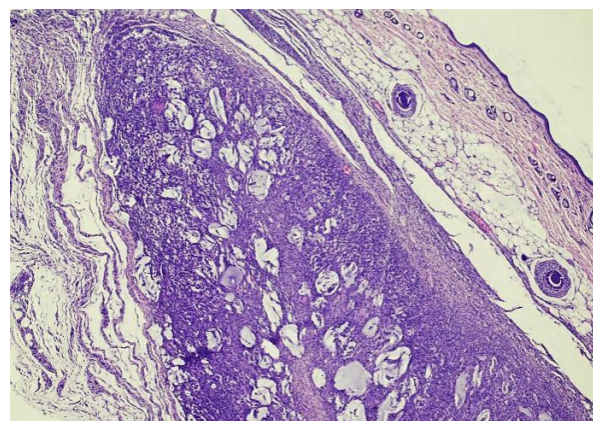
Рисунок 46 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + collagen 25%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100.

В клеточной популяции капсулы (клеточный слой) преобладали молодые фибробласты (на границе с волокнистым слоем), а по мере приближения к просвету полости в инфильтрате начинали преобладать лимфоциты и макрофаги.

На 14-е сутки наблюдения размеры ГПКС меньше, и он всегда плотный на ощупь. При микроскопии основная часть ГПКС выглядит как скопление остатков Na-КМЦ и коллагена, разделенных трабекулами, имеющими волокнисто-клеточное строение (Рисунок 47 А, Б).



А



Б

Рисунок 47 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 25%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

Размерность нерезорбированных очагов нарастает в глубину ГПКС. Трабекулы, являющиеся производными клеточного слоя капсулы, состоят из параллельно ориентированных пучков коллагеновых волокон, между которыми и внутри которых находятся клетки фибробластического ряда, составляющие абсолютное большинство клеток в популяции (Рисунок 49). Указанные трабекулы хорошо васкуляризированы (Рисунок 48).

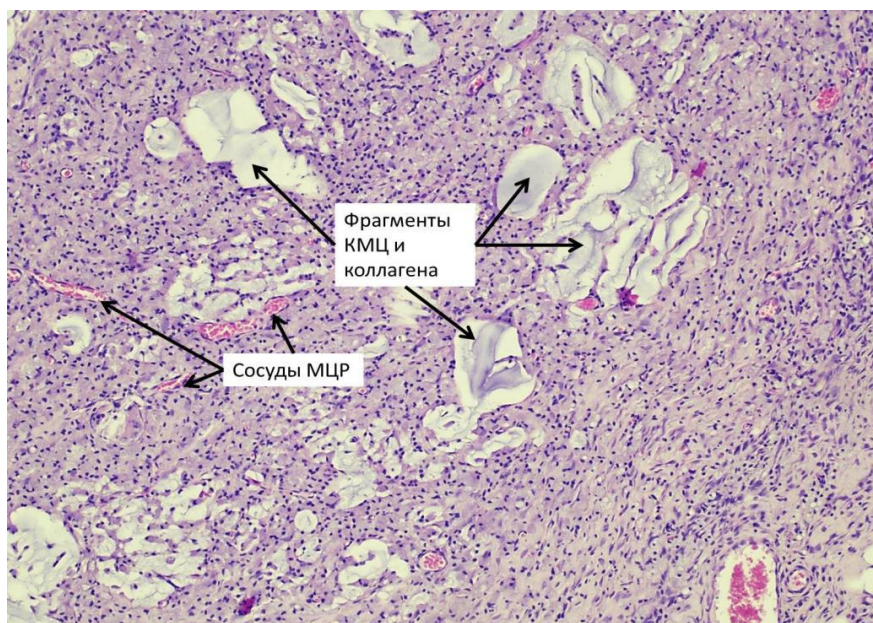


Рисунок 48 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 25%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100

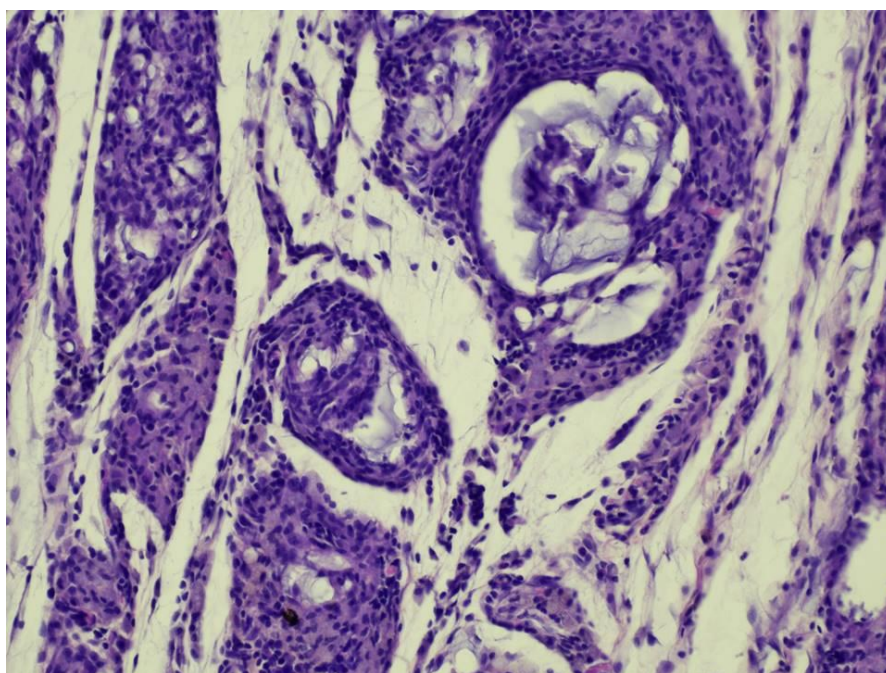
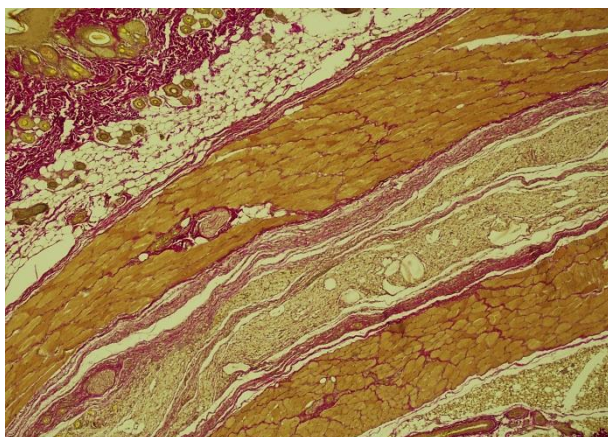
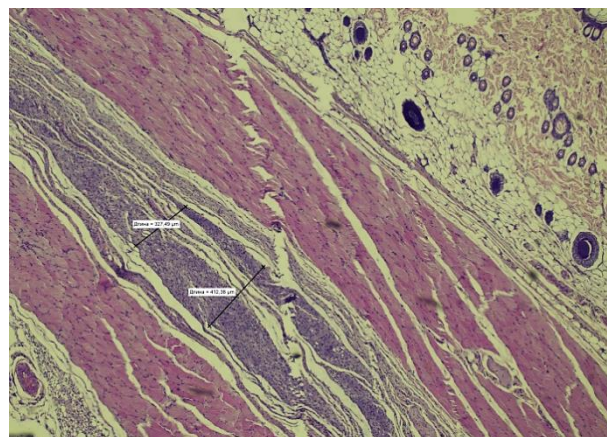


Рисунок 49 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке Na-КМЦ + коллаген 25%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

Увеличение срока наблюдения до 28 суток позволяет сделать вывод о продолжающейся резорбции ГПКС. Это проявляется в уменьшении его абсолютных размеров, повышении степени зрелости коллагеновых волокон волокнистого слоя капсулы (Рисунок 50 А, Б), уменьшении количества остаточных нерезорбированных очагов ГПКС.



А



Б

Рисунок 50 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 25%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

При большом увеличении удастся обнаружить отдельные области скопления нерезорбированных остатков ГПКС (Рисунок 51). Статистически значимые отличия в качественном составе клеток по сравнению с предыдущим сроком наблюдения отсутствовали.

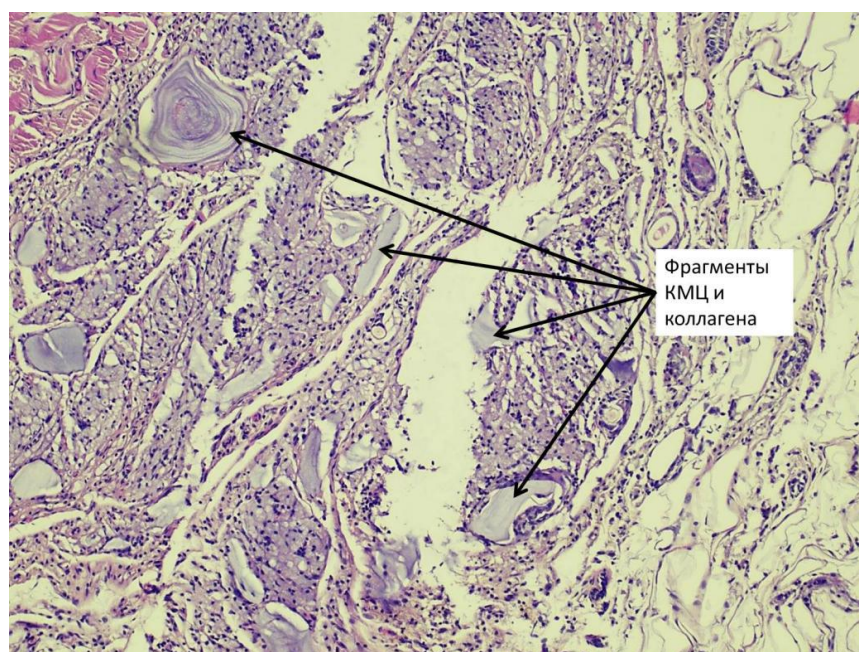
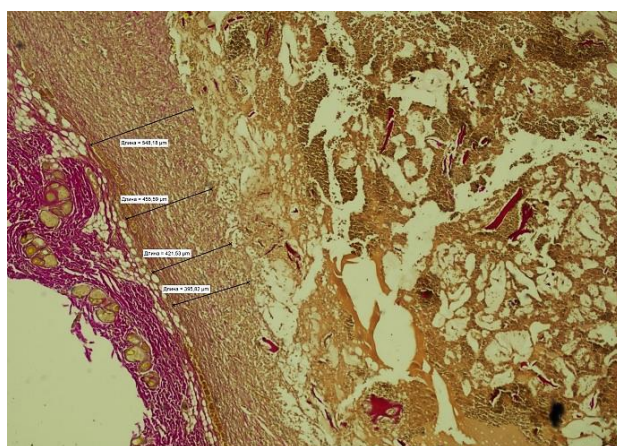
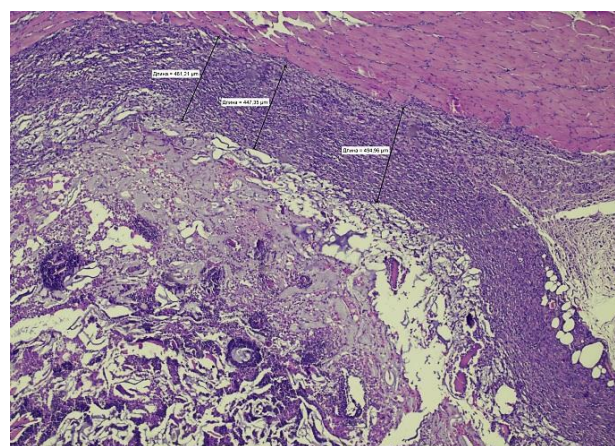


Рисунок 51 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ + коллаген 25%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х100

Во время забора (взятия) материала для гистологического исследования в 3-й группе животных (Na-КМЦ+ коллаген 50%) обнаружены округлые образования в области стояния ГПКС. При микроскопии капсула имеет следующее строение: наружный слой состоит из молодых коллагеновых волокон и имеет толщину от 380 до 550-600 мкм. Кнутри от него находится клеточный слой капсулы, в который инкорпорированы фрагменты ГПКС, имеющие разную размерность и состав (с преобладанием Na-КМЦ или пучков коллагена) (Рисунок 52-Рисунок 53).



А



Б

Рисунок 52 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. А – окраска по Ван-Гизону, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

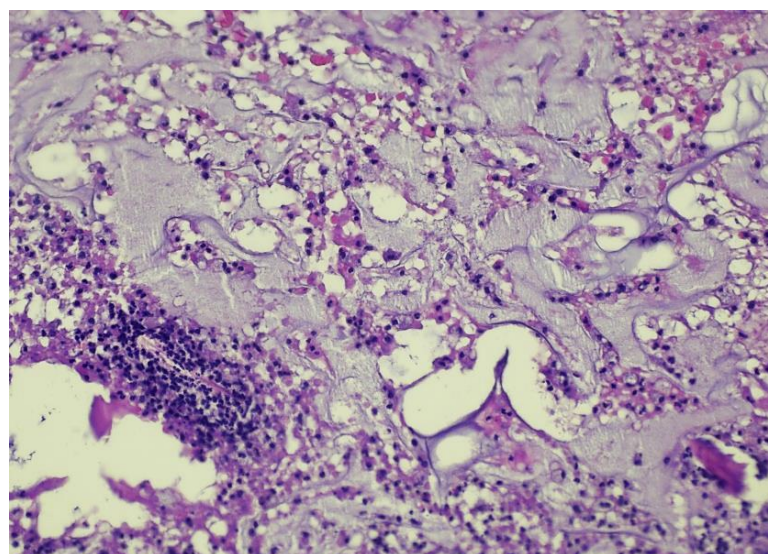


Рисунок 53 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

По мере приближения к внутренним слоям капсулы состав клеточной популяции меняется: нарастает относительное количество гранулоцитов, которые вначале образовали отдельные очаги, а на границе с полостью очаги сливались в монослой, состоящий преимущественно из ПЯЛ (полиморфно-ядерных лейкоцитов). Следует отметить, что вокруг фрагментов коллагеновых волокон иного происхождения (окрашивались оксифильно) находятся не только нейтрофилы, но и в большом количестве макрофаги и их клетки-предшественники – моноциты. Все вышесказанное свидетельствует о том, что в клеточном слое капсулы протекали процессы интенсивной резорбции ГПКС на фоне миграции к очагу воспаления других клеток – нерезидентов (Рисунок 54-Рисунок 55).

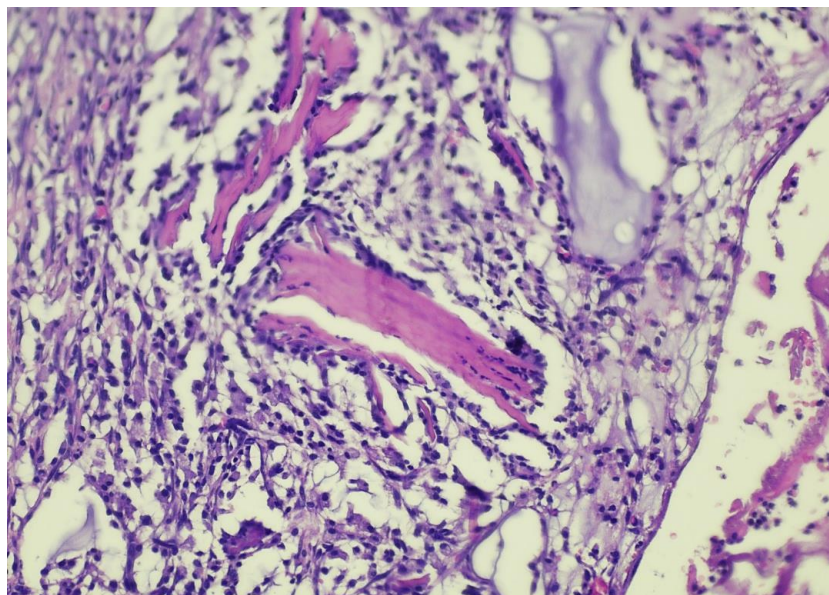


Рисунок 54 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x200

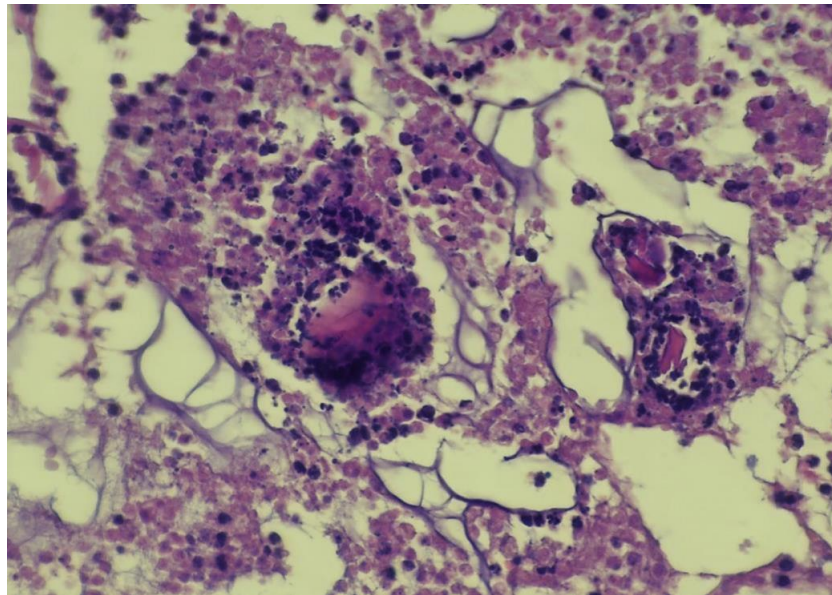
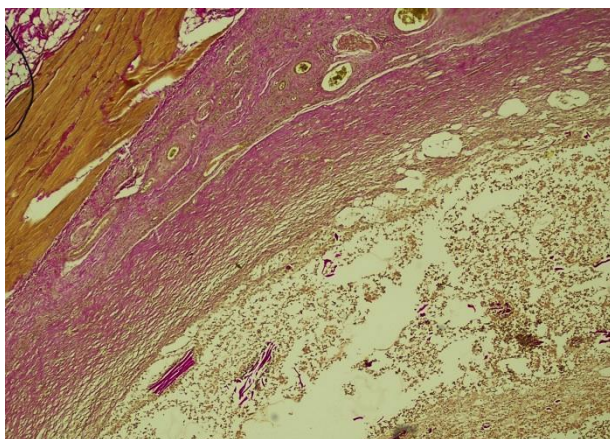
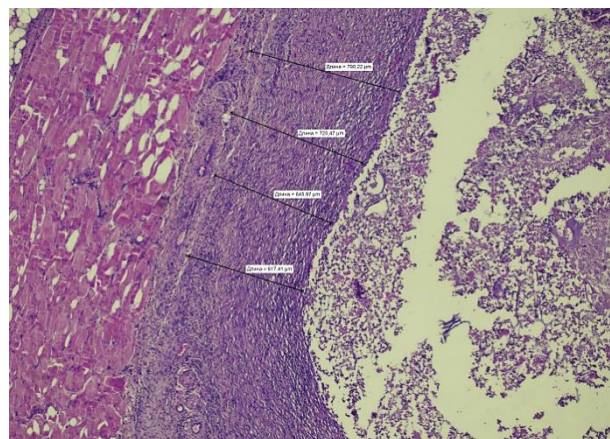


Рисунок 55 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x400

На 14-е сутки у животных этой группы наблюдается завершение организации Na-КМЦ. Это проявляется в редукции клеточного слоя капсулы. Видимо, наружный отдел клеточного слоя «отходит» к волокнистому слою, за счет чего последний утолщается до значений в 690-850 мкм (Рисунок 56 Б), а внутренний отдел клеточного слоя инкорпорируется в ГПКС. При этом как на препаратах, окрашенных по Ван-Гизон (Рисунок 56 А), так и на препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, отчетливо наблюдается градиент зрелости коллагеновых волокон: в наружном отделе волокнистого слоя капсулы пучки волокон наиболее зрелые, толстые и оксифильные, а на границе со сформированной полостью – молодые, тонкие и слабо базофильные (Рисунок 57).



А



Б

Рисунок 56 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х 40



Рисунок 57 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х100

В отдельных участках капсулы хорошо различимы расширенные лимфатические капилляры (Рисунок 58), располагающиеся среди пучков зрелых коллагеновых волокон. В их просвете видны макрофаги, мигрировавшие сюда от рядом расположенных фрагментов ГПКС, подвергающихся резорбции.

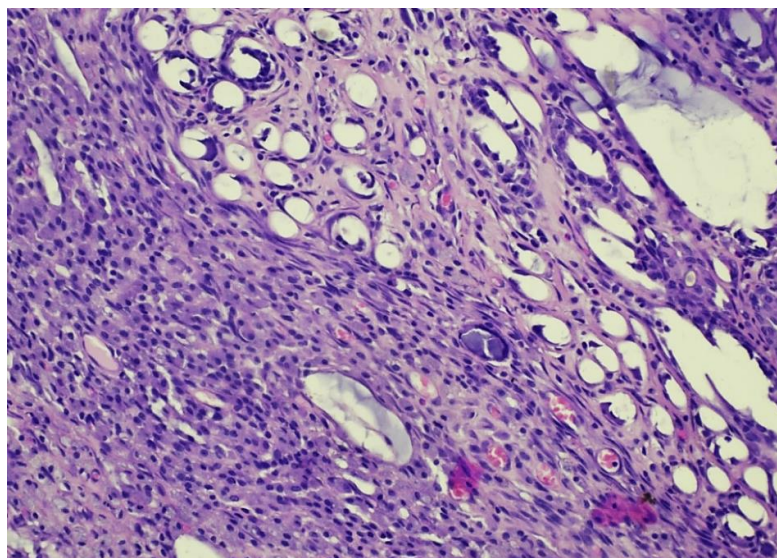


Рисунок 58 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x200

Рядом с резорбируемыми фрагментами коллагена и Na-КМЦ обнаруживали также единичные гигантские многоядерные клетки, имеющие в плоскости среза до 10-15 ядер, что свидетельствует об их высокой синтетической активности в части синтеза в том числе, и протеолитических ферментов, способствующих организации сформировавшейся полости за счет трансформации клеточного слоя капсулы (Рисунок 59).

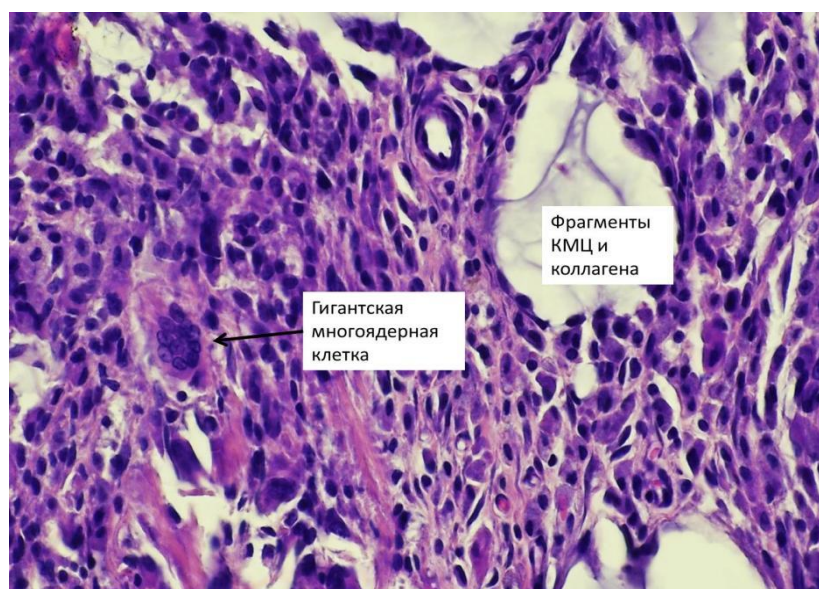
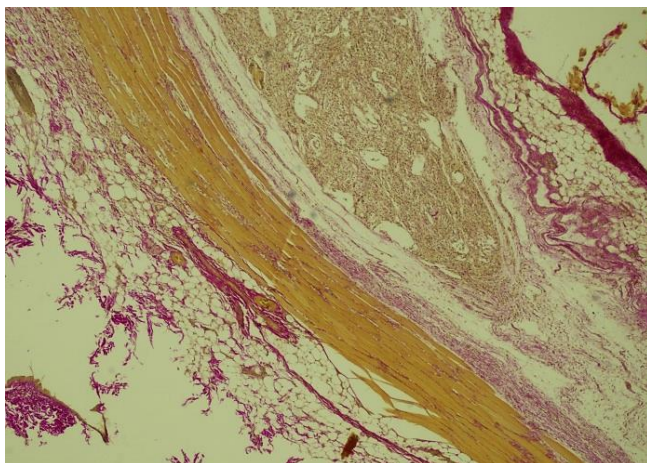
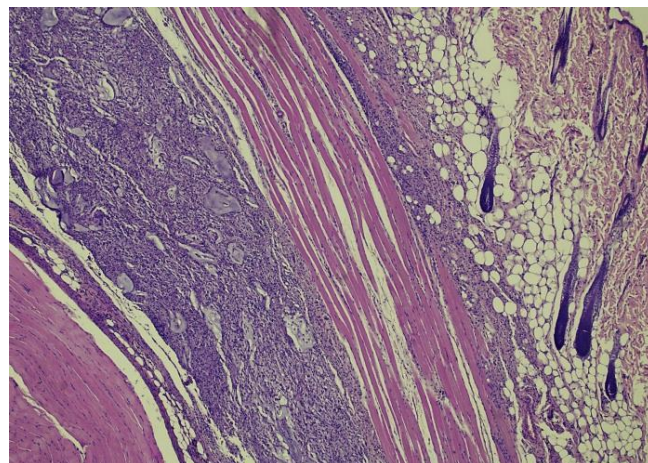


Рисунок 59 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x400

Увеличение срока наблюдения до 28 суток приводит к разрешению воспаления в области стояния ГПКС. Во всяком случае у 3 из 5 животных полостная структура отсутствовала, а у 2 – ее размеры были незначительны. На гистологических препаратах ГПКС оказался покрыт капсулой, имеющей двухслойную организацию. Наружный волокнистый слой представляет собой плотную оформленную волокнистую соединительную ткань и сформирован параллельно ориентированными пучками толстых коллагеновых волокон, между которыми обнаруживали фиброциты и зрелые фибробласты (Рисунок 60 А). Клеточный слой представляет собой совокупность трабекул, ограничивающих оставшиеся нерезорбированные фрагменты ГПКС (Рисунок 60 Б-Рисунок 61).



А



Б

Рисунок 60 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+коллаген 50%. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

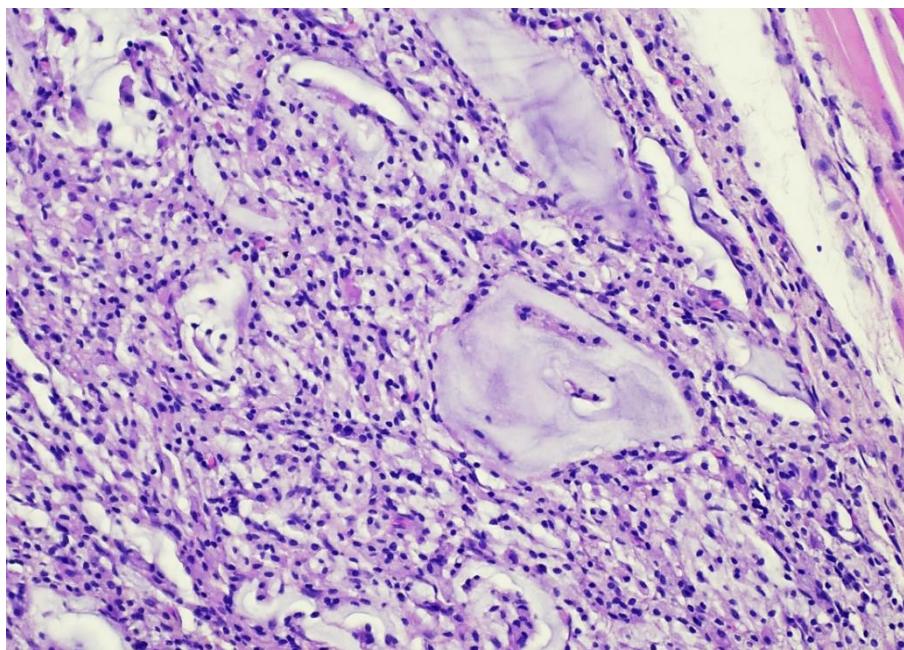
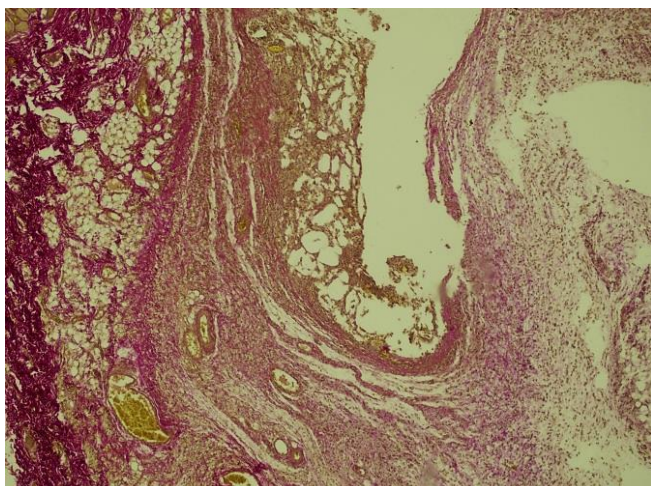
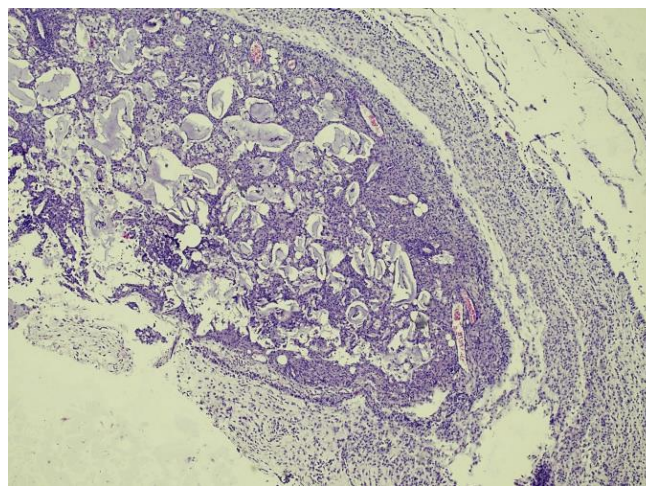


Рисунок 61 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ+ collagen 50%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x200

Во время взятия материала от животных 4-й серии исследования (Na-КМЦ) у всех животных без исключения на 7-е сутки наблюдения в области стояния ГПКС обнаруживалось округлое образование, которое при взятии (заборе) материала во время аутопсии представляло собой крошащуюся субстанцию. При световой микроскопии на малых увеличениях и при разных способах окраски отчетливо видно, что оптическая плотность стенок этой полости убывает в направлении снаружи-внутри (Рисунок 60 А, Б). Центральные отделы заняты кистозоподобными полостями размерами 170-580 мкм, заполненными ГПКС (Na-КМЦ).



А



Б

Рисунок 62 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. x40

При микроскопии на увеличениях x100-x200-x400 определить границу между волокнистым и клеточным слоями не удастся. Имеет место постепенное увеличение соотношения клеток/волокон в направлении снаружи-внутри с одновременным снижением степени зрелости фибробластов по этому же градиенту (Рисунок 63). Следует отметить, что самый глубокий отдел капсулы (клеточный) изобилует кровеносными сосудами, представляющими собой как капилляры и посткапиллярные венулы, так и сосуды микроциркуляторного русла большего калибра (артериолы и венулы) (Рисунок 64).

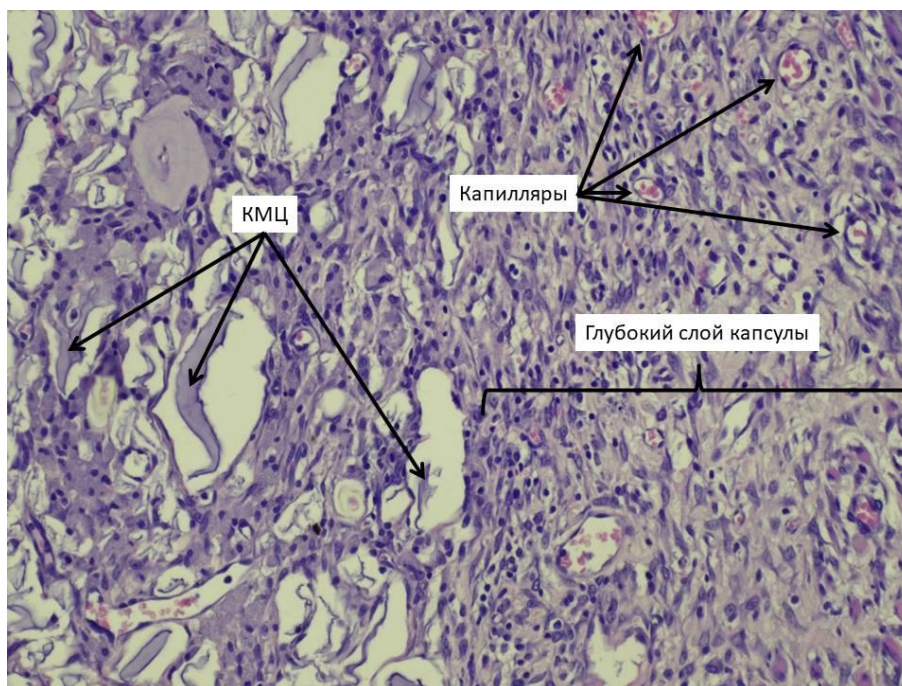


Рисунок 63 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

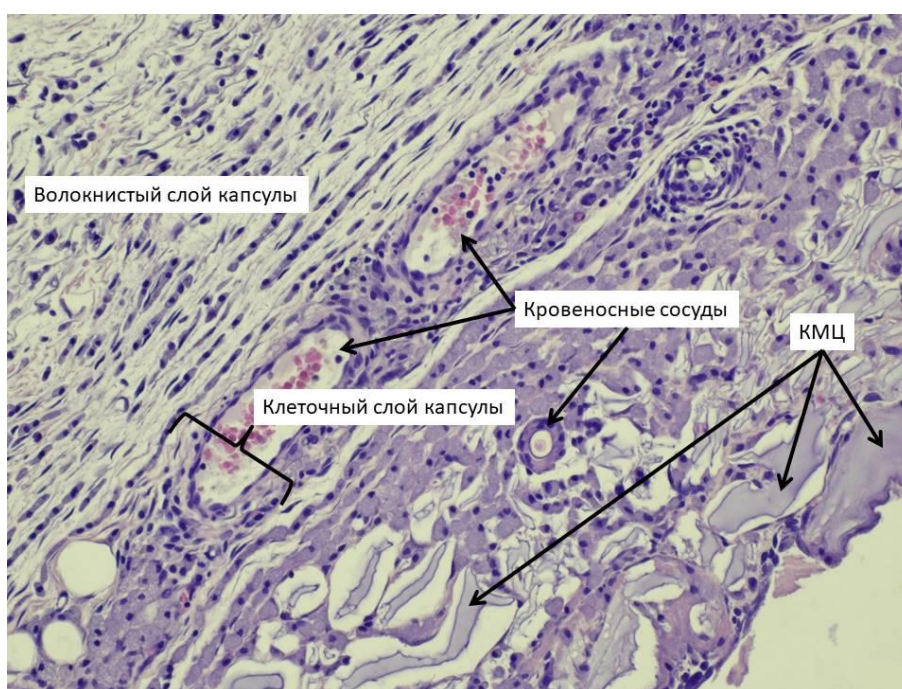


Рисунок 64 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. Глубокий отдел капсулы на границе с резорбируемым материалом ГПКС. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

На 14-е сутки наблюдения ГПКС оказывается покрытым равномерной по толщине и хорошо организованной соединительнотканной капсулой, состоящей из пучков молодых коллагеновых волокон, имеющих упорядоченную ориентацию.

Клеточный слой капсулы имеет вид множественных трабекул, состоящих из макрофагов и фибробластов различной степени зрелости и в меньшей степени тонких коллагеновых волокон и разделяющих Na-КМЦ ГПКС на очаги различной размерности. Размеры таких очагов (долек) увеличивались к центральной его части (Рисунок 65-Рисунок 66).

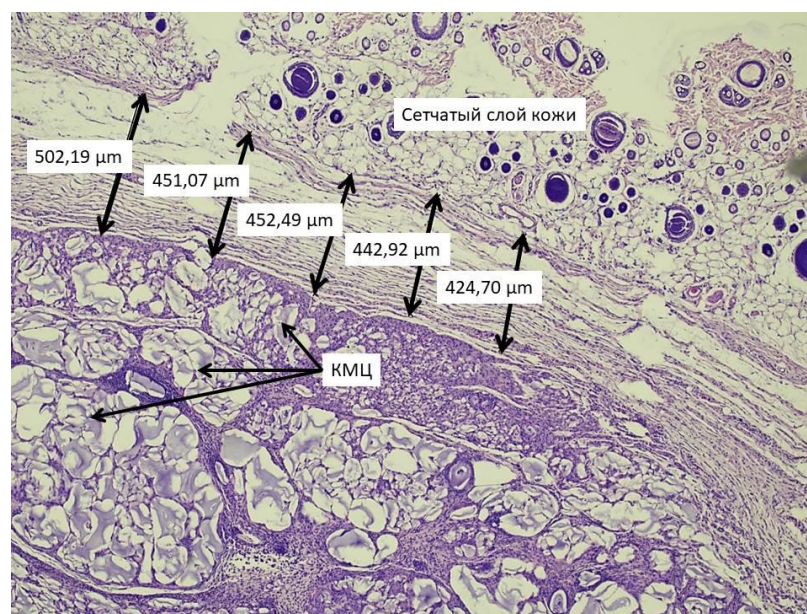


Рисунок 65 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. Капсула, покрывающая ГПКС. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

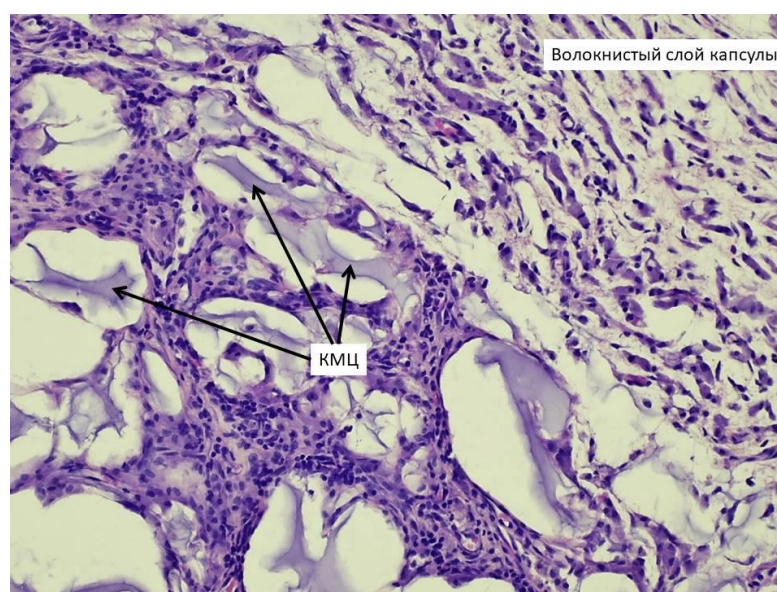
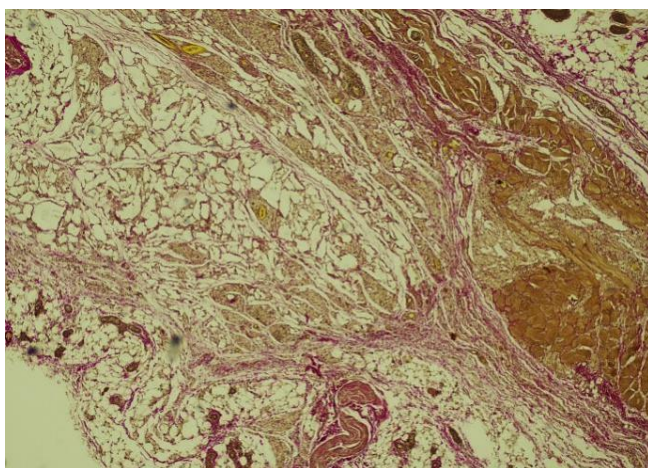
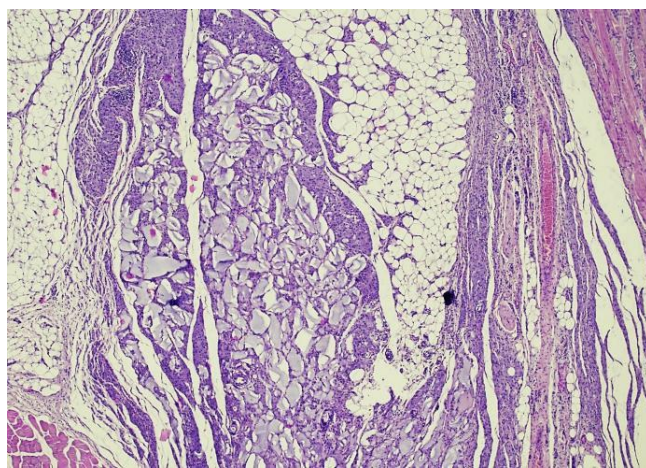


Рисунок 66 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. Окраска гематоксилин-эозином. Капсула, покрывающая материал ГПКС. Ув. х200

К 28-м суткам наблюдения существенных отличий в показателях резорбции ГПКС на основе Na-КМЦ нет. Остатки ГПКС покрыты соединительнотканной капсулой, имеющей несколько меньшую толщину, но эти отличия статистически недостоверны в сравнении с предыдущим сроком наблюдения. Остатки Na-КМЦ разделены соединительнотканными трабекулами на дольки, имеющие однородные размеры на всей площади образца (Рисунок 67 А, Б). В толще трабекул обнаруживались тонкие пучки зрелых коллагеновых волокон (Рисунок 67 А).



А



Б

Рисунок 67 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. x40

В популяции клеток, образующих трабекулы, в соответствии с кариологическими признаками (форма и размеры ядер) дифференцировались макрофаги, лимфоциты и единичные в поле зрения гранулоциты. Относительное количество последних не выходит за границы их нормального представительства как в РВСТ, так и в тканях в месте размещения тестируемых образцов (Рисунок 68).

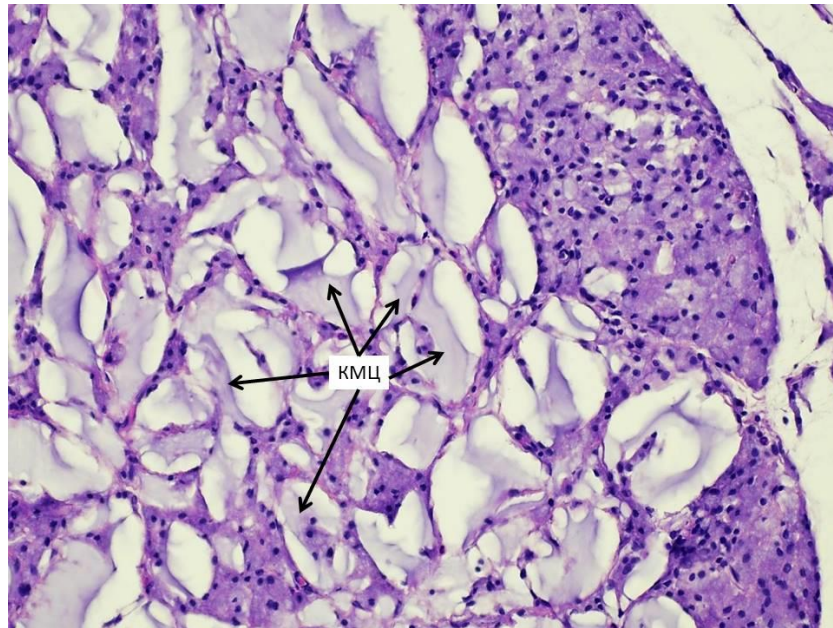


Рисунок 68 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Na-КМЦ. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

Таким образом, в течение 28 суток после введения ГПКС Na-КМЦ в подкожную клетчатку крысы его полной резорбции не происходит. Отличительными особенностями процесса его биodeградации являлись: отсутствие выраженного разделения соединительнотканной капсулы на два слоя и, вместо образования клеточного слоя, его врастание непосредственно в объем размещенного Na-КМЦ с разделением последнего на дольки различного размера (от мелких на периферии к более крупным в центре образца) с последующим выравниванием размерности долек к поздним срокам наблюдения (28 суток); отсутствие реакции гранулоцитов на Na-КМЦ; раннее формирование организованной волокнистой капсулы, практически не меняющей свою толщину на всех сроках наблюдения.

При микроскопии гистологических препаратов от животных, выведенных из эксперимента на 7-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической, установлено, что она подвергается разволокнению. Отчетливо визуализировались волокна, имеющие различную толщину. Степень разволокнения коррелирует с интенсивностью экссудации в ее поры клеток-нерезидентов и фибробластов (Рисунок 69).

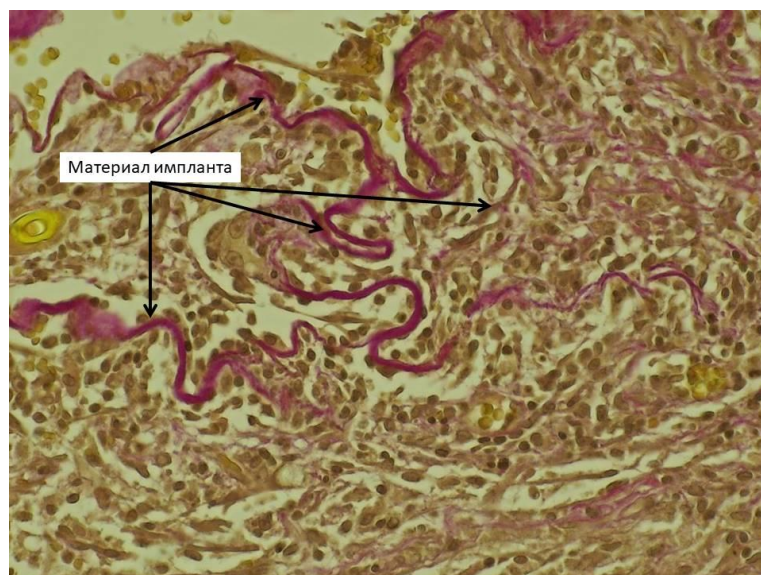


Рисунок 69 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической. Истонченные волокна ГПКС в окружении массива клеток-нерезидентов и фибробластов в правой части снимка. Окраска по Ван-Гизон. Ув. х400

Следует отметить, что в поверхностных слоях материала плотность клеточных инфильтратов выше, и они сливались с клеточным слоем окружающей ГПКС капсулы без видимой границы (Рисунок 70).

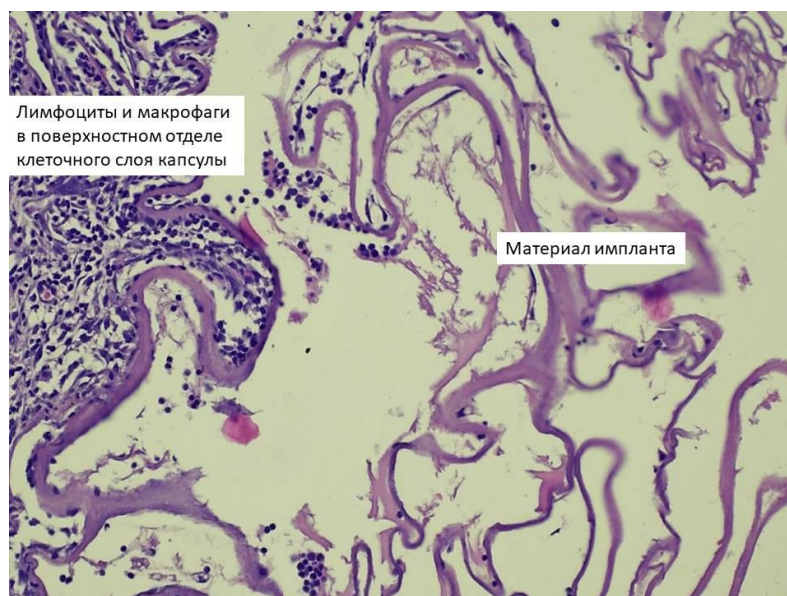


Рисунок 70 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической. Миграция в поры клеток экссудативной фазы воспаления (в левой части снимка). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

Сама капсула имеет двухслойную организацию. Наружный слой представлен плотной волокнистой соединительной тканью, вплетающейся в волокнистую часть дермы и отличающейся от нее лишь упорядоченным направлением хода волокон. Внутренний слой капсулы состоит из более молодых и тонких пучков коллагеновых волокон, между которыми определялись элементы клеточного слоя капсулы и воспалительного инфильтрата. Среди последних преобладали макрофаги и лимфоциты. Отчетливой границы между волокнистым и клеточным слоями капсулы нет. Толщина волокнистого слоя капсулы по этим причинам варьирует от 150-200 мкм до 870-920 мкм. Следует отметить, что наибольшую толщину волокнистый слой капсулы имеет на участках наиболее сильного разволокнения материала ГКГ (Рисунок 71-70).

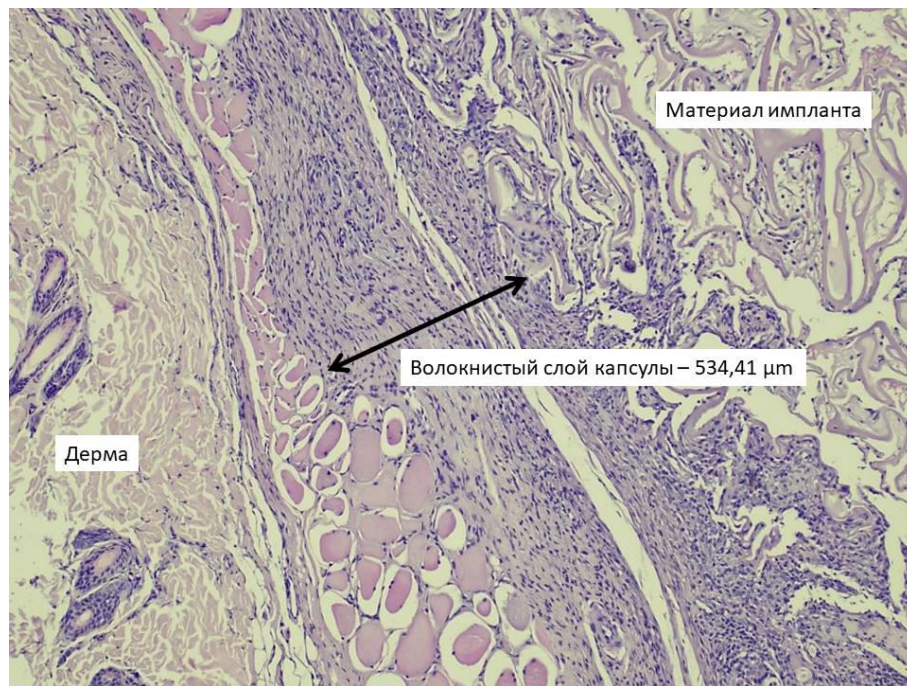


Рисунок 71 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической. Соединительнотканная капсула, отделяющая дерму кожи (левая часть снимка) от ГПКС (правая часть снимка). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100

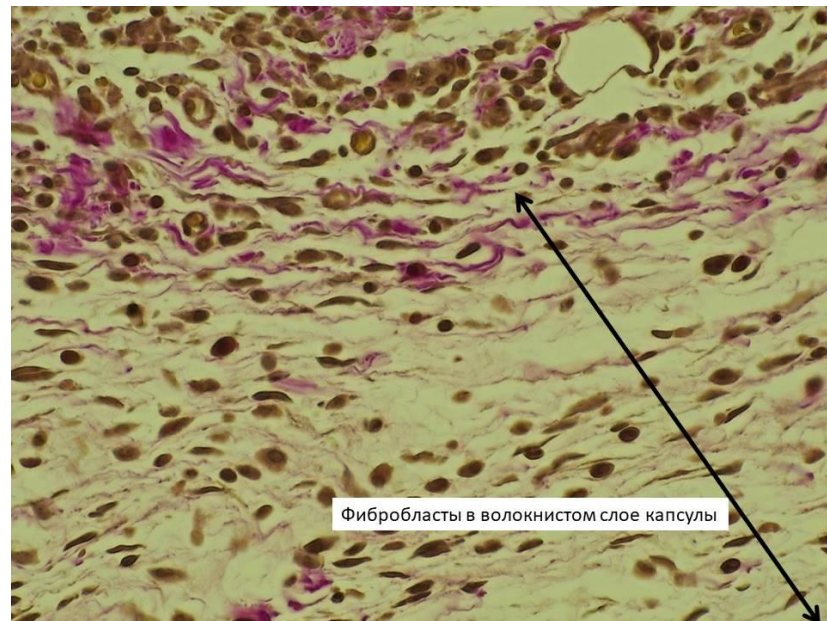


Рисунок 72 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической. Граница между волокнистым и клеточным слоями капсулы. Окраска по Ван-Гизон. Ув. x400

На следующем сроке наблюдения (14-е сутки) все поры гемостатической губки оказывались заполненными фибробластами различной степени зрелости, а на ее периферии – новообразованными коллагеновыми волокнами, проникающими в поры из волокнистого слоя капсулы (Рисунок 73).



Рисунок 73 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов губки коллагеновой гемостатической. Граница между волокнистым и клеточным слоями капсулы. Окраска по Ван-Гизон. Ув. x200

Отчетливо выражен градиент зрелости коллагеновых волокон в капсуле. Клеточный слой капсулы без видимой границы продолжается в клеточно-волоконистый массив в порах губки. Клеточный состав инфильтрата представлен преимущественно зрелыми фибробластами и лимфо-гистиоцитами.

Наиболее существенными отличиями в морфологической картине реакции тканей лабораторных животных на размещение в подкожно-жировой клетчатке образцов ГКГ на 28-е сутки по сравнению с 14-суточным наблюдением является почти полная резорбция материала губки с его замещением соединительной тканью, в которой определялись «дорожки» активных макрофагов. Соединительнотканная капсула не дифференцируется от окружающих фиброзных структур.

Сравнительный анализ морфологической картины реакции тканей лабораторных животных на подкожное размещение коллагеновой гемостатической губки показал, что уже на ранних сроках наблюдения начинались процессы ее биodeградации, проявляющейся экссудацией в поры моноцитов и лимфоцитов с последующей дифференцировкой первых в макрофаги и одновременной активацией пролиферации и дифференцировки клеток фибробластического дифферона. Последнее приводит к формированию вокруг ГПКС плотной соединительнотканной капсулы, толщина которой и степень зрелости коллагеновых волокон непрерывно возрастали на всех сроках наблюдения, а клеточный слой капсулы служит источником популяции клеток, мигрирующих в поры ГПКС и способствующих его биodeградации с последующим замещением материала соединительной тканью.

При микроскопии гистологических срезов в группе животных на сроке 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке кровоостанавливающего средства «Surgicel Fibrillar» (6-я группа) установлено, что исследуемый материал разволокнен, причем наиболее тонкие волокна материала раздроблены до фрагментов размерами, сопоставимыми с эритроцитами или менее (около 4-7 мкм). Фрагментация волокон отчетливо видна в области истонченных концов волокон материала, где также обнаруживались скопления лимфоцитов и макрофагов

(Рисунок 74). Следует отметить, что степень зрелости клеток фибробластического дифферона в волокнистом и клеточном слоях капсулы различна. В волокнистом слое они уже дифференцированы до фиброцитов, имели тонкие, веретеновидные, темные вследствие преобладания гетерохроматина ядра. Они находятся в окружении коллагеновых волокон различной степени зрелости в глубоких и поверхностных отделах волокнистого слоя капсулы. В клеточном слое фибробласты имели округлые светлые ядра, отчетливо различимое ядрышко, что позволяет идентифицировать их как юные формы (Рисунок 75).

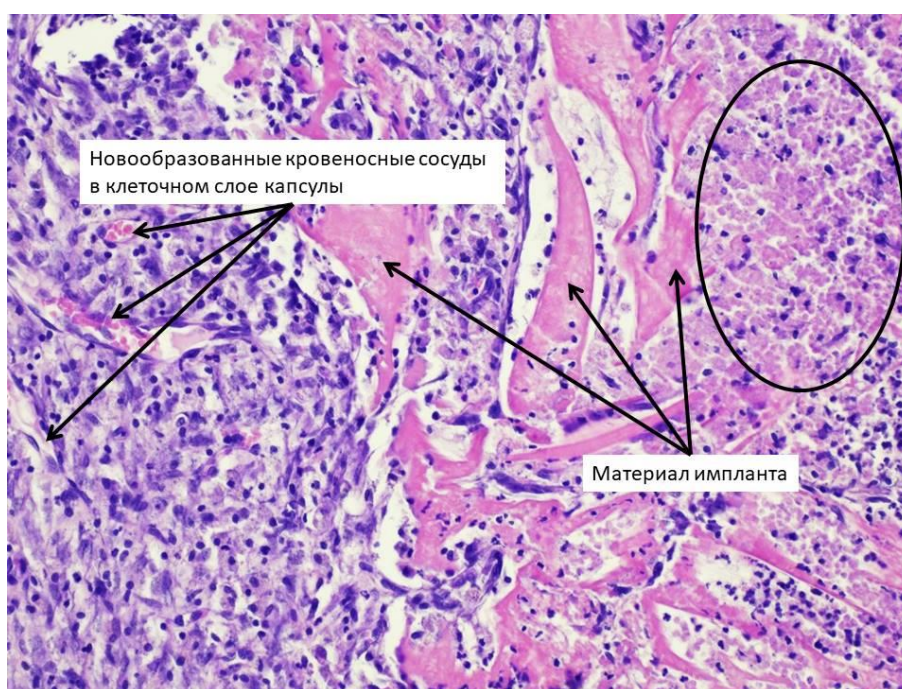


Рисунок 74 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Зона фрагментации материала выделена овалом. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

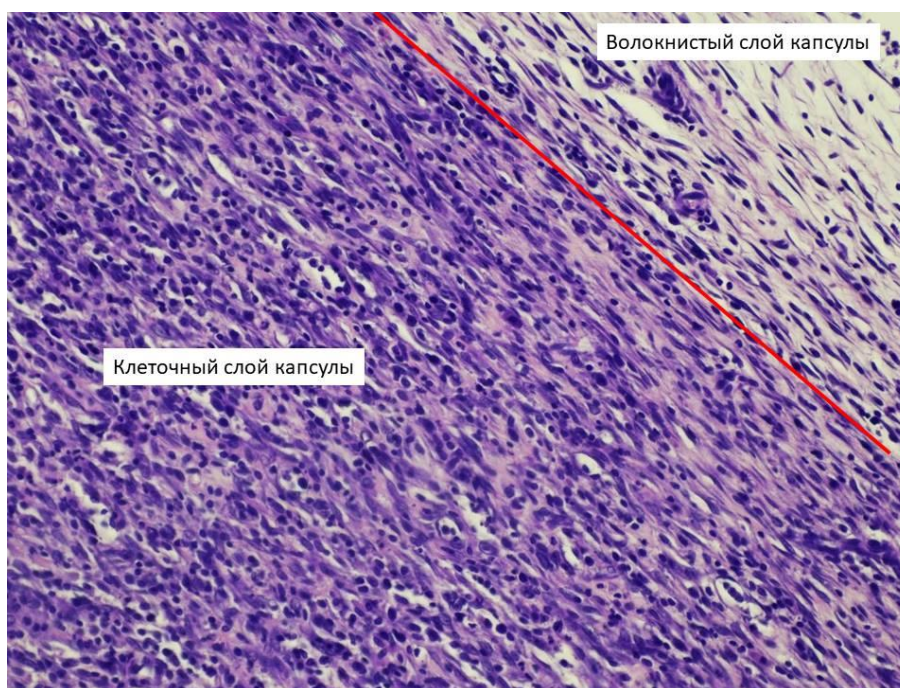


Рисунок 75 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Граница между волокнистым и клеточным слоями капсулы показана красной линией. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x200

Основным видом клеток, входящих в структуру тканей, взятых из места размещения образцов, являлись фибробласты и лимфоциты. Лишь вокруг остатков ГПКС и рядом с расширенными лимфатическими капиллярами обнаружены макрофаги с отчетливо различимыми в их цитоплазме фаголизосомами (Рисунок 76-75).

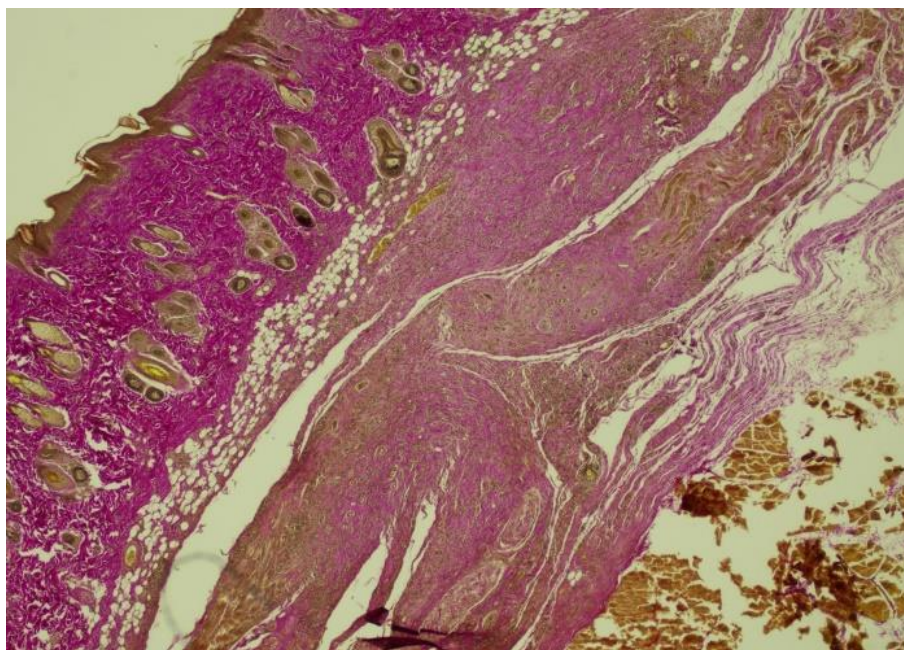


Рисунок 76 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Окраска по Ван-Гизон. Ув. х40

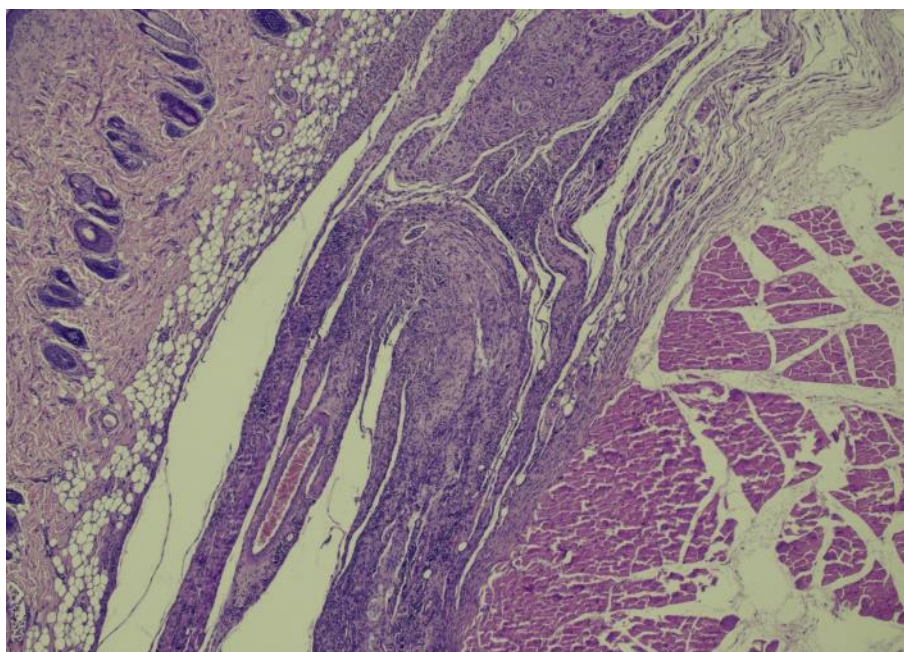


Рисунок 77 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

Клеточный слой капсулы прорастает в материал изделия. Отдельные фрагменты материала оказывались окруженными выраженной «индивидуальной» капсулой, состоящей из зрелых коллагеновых волокон, фибробластов различной степени зрелости и макрофагов (Рисунок 78). Там, где резорбция материала тестируемого образца полностью завершена, обнаруживались участки в виде

лимфо-гистоцитарных инфильтратов, перемежающиеся с участками избирательной пролиферации фибробластов (Рисунок 79).



Рисунок 78 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Окраска по Ван-Гизон. Ув. x200

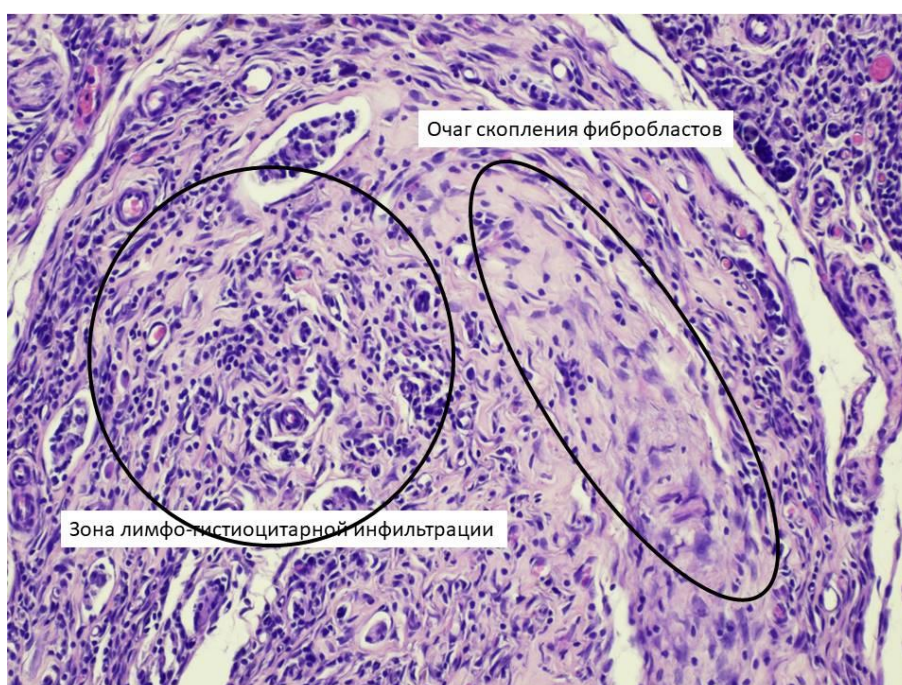


Рисунок 79 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

В отдельных участках лимфо-гистоцитарных инфильтратов обнаружены

немногочисленные многоядерные клетки по типу гигантских клеток инородных тел. На это указывает относительно небольшое количество ядер (до 4-7). Такие клетки не обнаружены в волокнистом слое капсулы и прилегающих к нему участках клеточного слоя. Но именно здесь удастся различить макрофаги, мигрирующие к лимфатическим капиллярам и имеющие в своей цитоплазме большое количество фаголизосом. Волокнистый слой капсулы имеет равномерную толщину на всем ее протяжении. Цифровые данные, характеризующие толщину волокнистого слоя капсулы и качественный состав клеточной популяции в клеточном слое на этом сроке наблюдения, представлены в последующих таблицах.

К 28-м суткам наблюдения исследуемый образец полностью резорбирован. На его месте обнаруживается плотная волокнистая соединительная ткань, представляющая собой двухслойную капсулу, фиброзно измененную в ходе ее ремоделирования. Идентифицировать волокнистый и клеточный слои капсулы удастся только в некоторых местах. Этим объясняется утолщение волокнистого слоя капсулы на этом сроке наблюдения по сравнению с предыдущими (Рисунок 80).

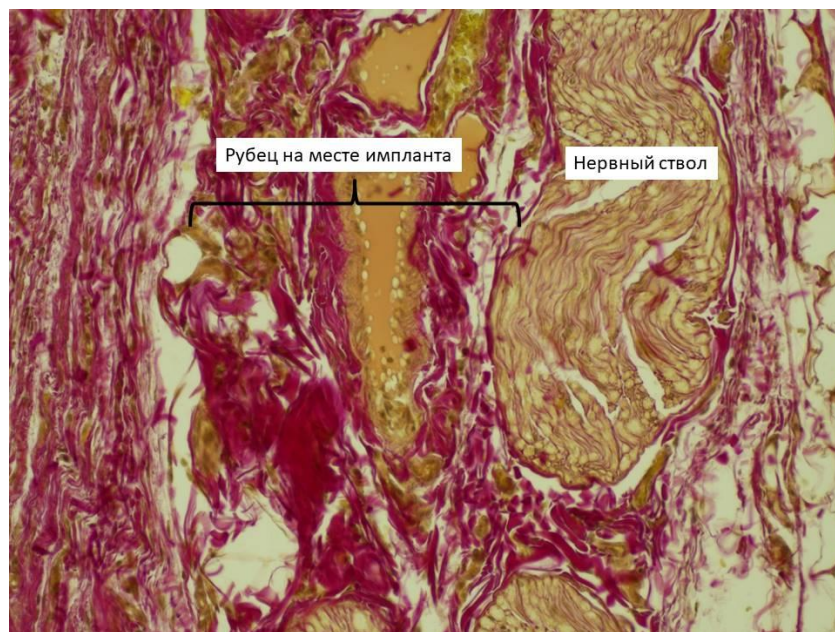


Рисунок 80 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar. Окраска по Ван-Гизон. Ув. x200

Таким образом, в течение 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Surgicel Fibrillar происходит его полная резорбция с замещением его объема соединительной тканью, образование которой начинается с формирования лимфо-гистоцитарных инфильтратов. Резорбция материала происходит за счет экссудации из кровеносных сосудов моноцитов с дифференцировкой их в тканях в макрофаги, а также лимфоцитов.

Исследование микрофотографий после 7 суток размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Тахокомб показало, что ГПКС разволокнено, причем плотность волокон различна в поверхностных и глубоких отделах изделия. Вокруг расположена двухслойная капсула. Наружный слой капсулы представлен коллагеновыми волокнами, имеющими различную степень зрелости, убывающую в направлении снаружи-внутри. Толщина волокнистого слоя капсулы сильно варьирует в пределах от 220 мкм (в наиболее тонких местах) до 721-790 мкм в наиболее толстых участках. Следует отметить, что со стороны кожи толщина волокнистого слоя капсулы больше, нежели со стороны подлежащих мышц. Это выявляется как на срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, так и на срезах, окрашенных селективной по отношению к коллагену окраской по методу Ван-Гизон (Рисунок 81-80 А, Б).

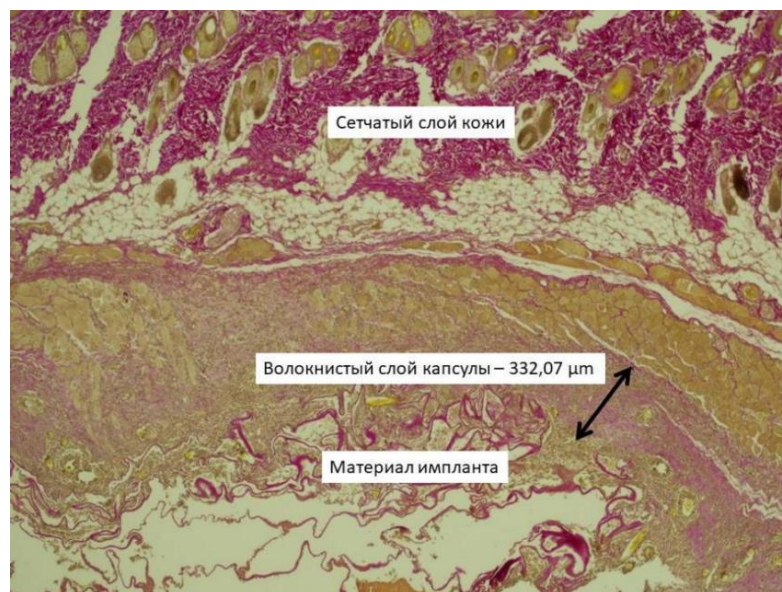
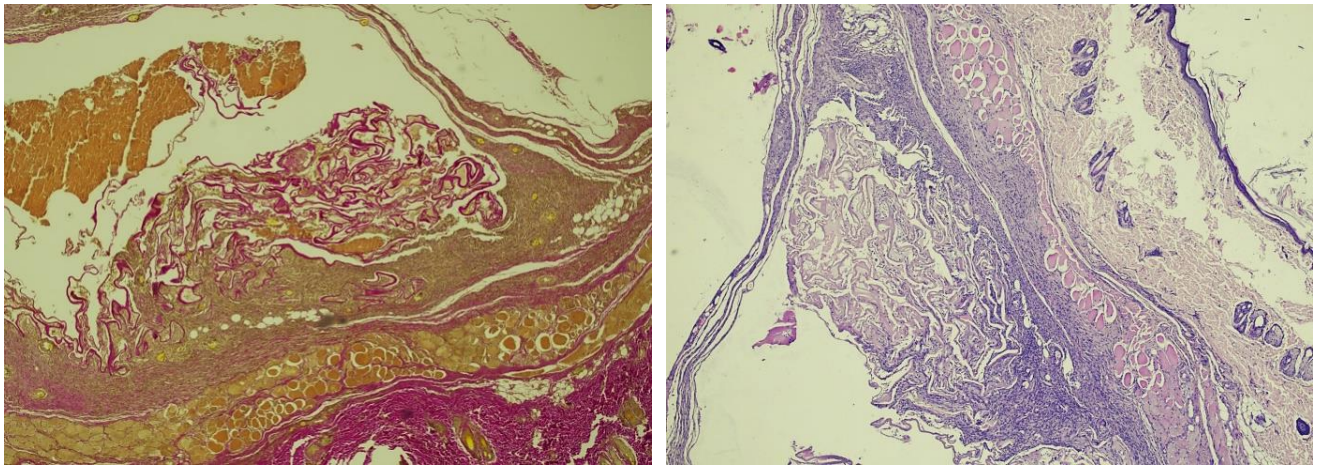


Рисунок 81 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». Окраска по Ван-Гизон. Ув. х40



А

Б

Рисунок 82 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

Клеточный слой капсулы на границе с волокнистым слоем представлен фибробластами, а также макрофагами и лимфоцитами (Рисунок 83).

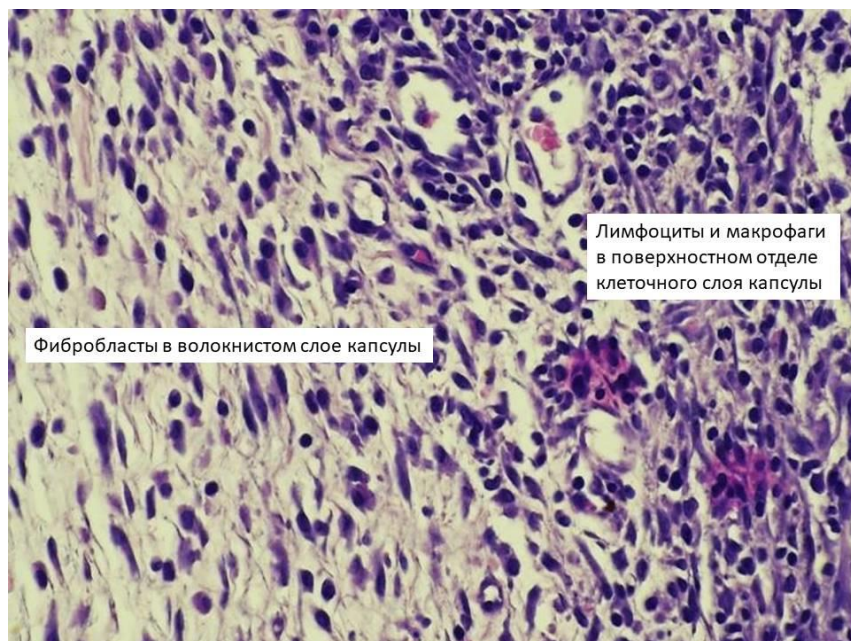


Рисунок 83 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х400

В глубже расположенных отделах ГПКС клеточный состав сильно меняется – преобладали лимфоциты и макрофаги. Единичные юные фибробласты обнаружены в наиболее крупных пространствах между волокнами ГПКС (Рисунок 84).

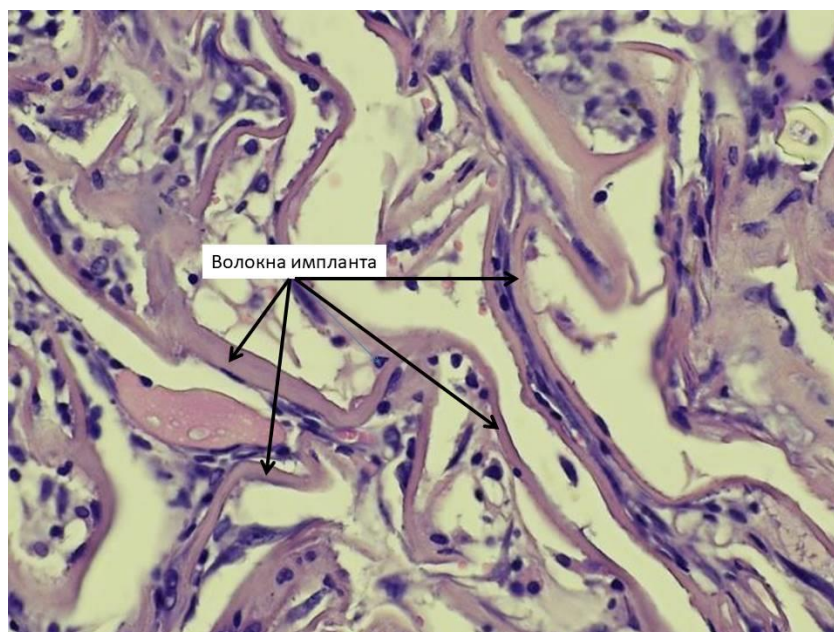
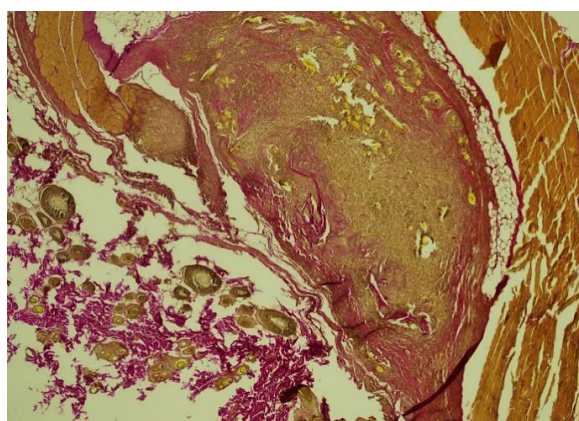
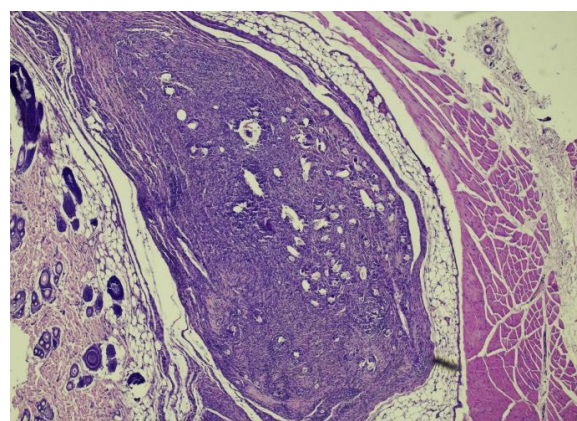


Рисунок 84 – Микрофотография. 7 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х400

К 14-м суткам после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов Тахокомб ГПКС представляется уплотненным. Все пространства между его волокнами заполнены фибробластами различной степени зрелости и коллагеновыми волокнами (Рисунок 85 А, Б). Волокнистый слой капсулы отчетливо различим (Рисунок 86) и окружает равномерным слоем ГПКС. Степень зрелости коллагеновых волокон увеличивается в направлении снаружи-внутри.



А



Б

Рисунок 85 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». А – окраска по Ван-Гизон, Б – окраска гематоксилин-эозином. Ув. х40

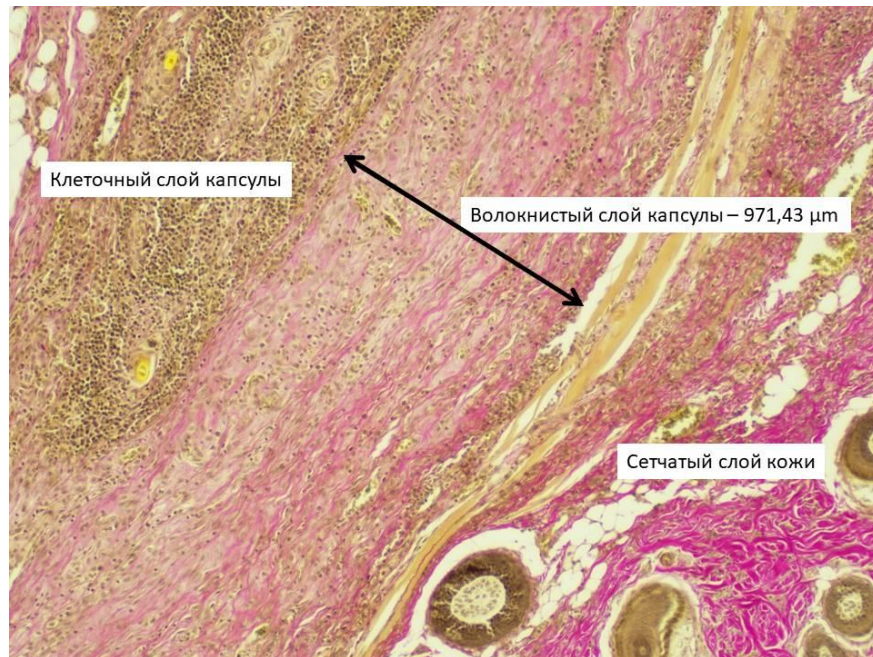


Рисунок 86 – Микрофотография. 14 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». Окраска по Ван-Гизон. Ув. х40

Клеточный слой капсулы как таковой отсутствует, поскольку без видимой границы продолжается в клеточно-волоконистый инфильтрат, заполняющий пространства между волокнами материала «Тахокомб» и состоящий из фибробластов, макрофагов и единичных (в поле зрения) гранулоцитов.

На 28-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке материала группы Тахокомб морфологическая картина процесса резорбции отличается от предыдущего срока наблюдения еще большей плотностью клеток в материале ГПКС, практически полной его резорбцией и наличием скоплений активных макрофагов, мигрирующих в направлении ближайших лимфатических капилляров (Рисунок 87). Толщина волокнистого слоя капсулы на этом сроке наблюдения максимальна.

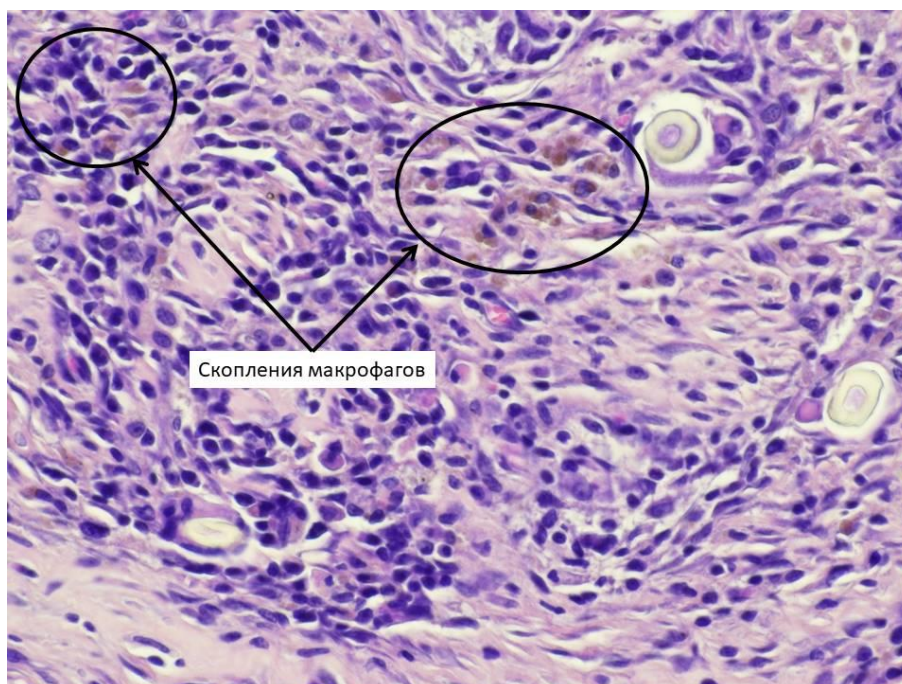


Рисунок 87 – Микрофотография. 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов «Тахокомб». Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х400

Таким образом, в течение 28 суток после размещения в подкожно-жировой клетчатке образцов группы «Тахокомб» происходит его практически полная биодеградация с одновременным образованием вокруг него соединительнотканной капсулы, в которой происходит непрерывное на протяжении всего срока наблюдения увеличение толщины волокнистого слоя и увеличение толщины коллагеновых волокон и их степени зрелости с одновременной инфильтрацией самого образца лимфоцитами и макрофагами с последующей миграцией в материал ГПКС (начиная с 14-х суток наблюдения) фибробластов, участвующих в формировании на месте резорбируемого материала соединительнотканых структур.

Ниже представлены результаты изучения динамики толщины волокнистого слоя соединительнотканной капсулы (таблица 19).

Таблица 19 – Динамика толщины волокнистого слоя соединительнотканной капсулы, мкм

	Опыт			Контроль		Сравнение	
	Na-КМЦ+коллаген 15%	Na-КМЦ+коллаген 25%	Na-КМЦ+коллаген 50%	Губка на основе Na-КМЦ	Губка коллагеновая гемостатическая	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	Пластина кровоостанавливающая "Тахокомб"
7 суток	403,4	706,1	478,1	406,4	679,2	404,7	391,3
14 суток	363,4	545,8	614,8	417,5	905	423,7	825,4
28 суток	387,6	493,3	870,3	393,4	1266	700,7	1065

Морфометрические данные, характеризующие толщину волокнистого слоя капсулы и качественный состав клеточной популяции в клеточном слое, представлены в нижеприведенных таблицах и диаграммах (Рисунок 88-Рисунок 90, Таблица 20-Таблица 26).

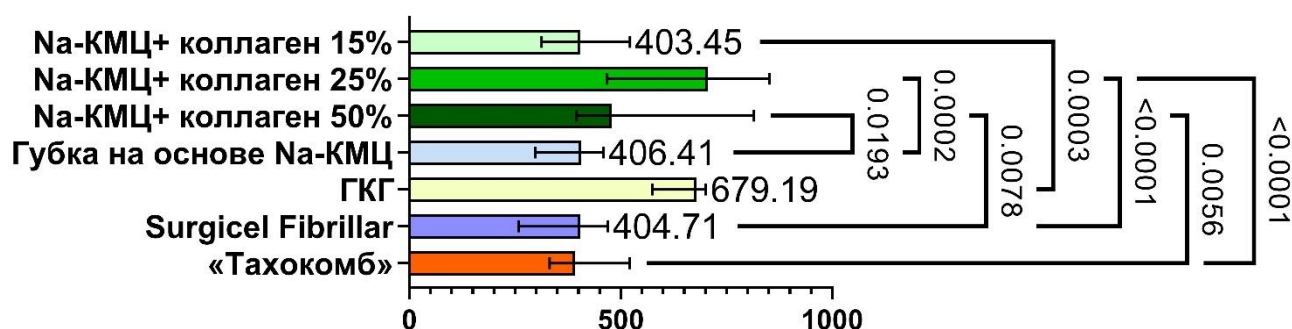


Рисунок 88 – Толщина волокнистого слоя капсулы на 7-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке исследуемых образцов ГПКС, мкм

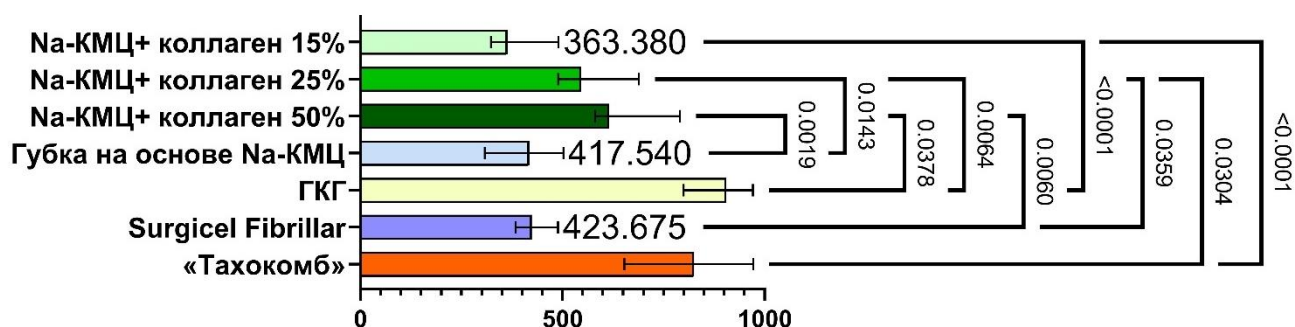


Рисунок 89 – Толщина волокнистого слоя капсулы на 14-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке исследуемых образцов ГПКС, мкм

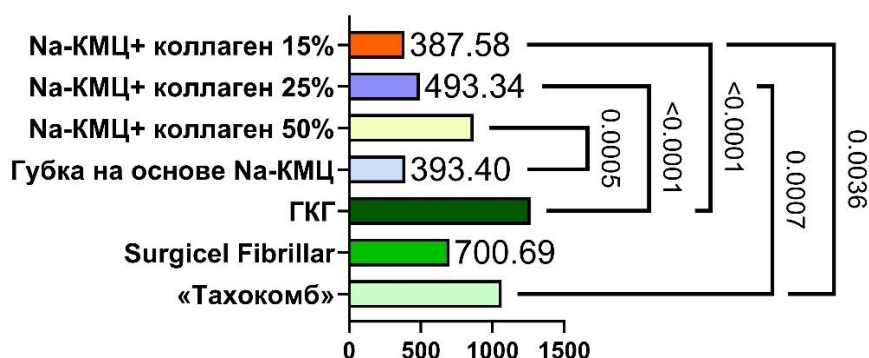


Рисунок 90 – Толщина волокнистого слоя капсулы на 28-е сутки после размещения в подкожно-жировой клетчатке исследуемых образцов ГПКС, мкм

Основным видом клеток, входящих в структуру тканей, взятых из места размещения образцов, являлись фибробласты и лимфоциты. Лишь вокруг остатков ГПКС и рядом с расширенными лимфатическими капиллярами обнаружены макрофаги с отчетливо различимыми в их цитоплазме фаголизосомами (Таблица 20-Таблица 26).

Таблица 20 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг Na-KMЦ+ collagen 15% на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	32,3	51,1	78,1
Макрофаги	11,3	8,8	7,5
Гранулоциты	14,5	8,2	9,3
Лимфоциты	41,9	31,9	5,1
КИ	0,59	1,49	5,94

Таблица 21 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг Na-КМЦ+ коллаген 25% на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	27,0	67,3	82,2
Макрофаги	16,6	8,4	4,6
Гранулоциты	13,2	6,2	6,8
Лимфоциты	43,2	18,1	6,4
КИ	0,77	2,20	6,57

Таблица 22 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг Na-КМЦ+ коллаген 50% на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	19,1	66,2	84,9
Макрофаги	18,3	9,2	4,2
Гранулоциты	21,9	6,1	5,8
Лимфоциты	40,7	18,5	5,1
КИ	0,59	3,06	8,17

Таблица 23 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг Na-КМЦ на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	46,9	61,2	83,4
Макрофаги	6,1	8,3	4,1
Гранулоциты	7,15	12,7	5,5
Лимфоциты	39,85	17,8	7,0
КИ	1,12	2,27	7,0

Таблица 24 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг образца губки коллагеновой гемостатической на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	62,9	71,2	85,6
Макрофаги	9,3	7,5	4,6
Гранулоциты	6,2	10,3	4,8
Лимфоциты	21,6	11,0	5,0
КИ	2,59	3, 7	9,2

Таблица 25 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг Surgicel Fibrillar на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	42,15	56,3	70,2
Макрофаги	8,85	8,7	12,4
Гранулоциты	7,4	11,18	6,8
Лимфоциты	41,6	23,82	10,6
КИ	1,04	1,85	4,74

Таблица 26 – Качественный состав клеточной популяции капсулы вокруг «Тахокомб» на различных сроках

	7 суток (N=5)	14 суток (N=5)	28 суток (N=5)
Фибробласты и фиброциты	37,4	48,2	74,4
Макрофаги	15,1	12,7	6,05
Гранулоциты	12,6	7,0	11,4
Лимфоциты	34,9	32,1	8,15
КИ	1,15	1,55	2,72

Анализ полученных данных в трех сериях эксперимента с подкожным размещением комбинированной губки, состоящей из коллагена и Na-КМЦ возрастающей концентрации, показал, что увеличение доли коллагена относительно содержания Na-КМЦ в ГПКС приводит к усилению воспалительной реакции в области его стояния. Одной из возможных причин тому может быть изменение адсорбционных характеристик полотна губки, что может приводить к задержке межклеточной жидкости, нарастанию гипоксии, локальному ацидозу и, как следствие, экссудации в очаг воспалений нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов. С другой стороны, обнаруженный нами выраженный лимфоцитоз в клеточной популяции может быть объяснен тем, что во всех сериях исследования применялся ксенотрансплантат: коллаген лошади (Тахокомб), коллаген – продукт переработки туш крупного рогатого скота (ГКГ) и коллаген морского происхождения (опытные серии 1-3). Мы не ставили задачей изучение иммунологических субпопуляций лимфоцитов в клеточном слое капсулы, поэтому не можем ответить на вопрос, какое звено иммунного ответа запускает размещение того или иного вида ГПКС. Но практически нормальное содержание гранулоцитов в клеточном слое капсулы во всех сериях исследования позволяет сделать вывод об

отсутствии контактов иммунокомпетентных клеток с антигенами бактериального происхождения. Безотносительно к типу ГПКС можно думать о том, что, возможно, в области стояния коллагенсодержащей губки происходит накопление В-лимфоцитов, дифференцирующихся здесь в плазмциты, вырабатывающие специфические антитела к определенному виду коллагена. Происходящая таким образом опсонизация ксеноколлагена облегчает его «разборку» макрофагами и, как следствие, обеспечивает более быструю пролиферацию фибробластов с последующим формированием волокнистой капсулы и ее дальнейшее ремоделирование. Биомеханические характеристики формирующихся на месте ГПКС соединительнотканых образований нуждаются в дальнейшем изучении.

7.2. Уровень гидроксипролина в тканях из зоны размещения образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

Уровень гидроксипролина в соединительнотканной капсуле является маркером степени фиброза, так как аминокислота пролин, метаболитом которого является данный показатель, входит в состав коллагена. Примененный в настоящем исследовании метод явился биохимическим эквивалентом морфологических проявлений, описанных в предыдущей подглаве, как результат подкожного размещения тестируемых образцов ГПКС. Зафиксированные параметры представлены в таблицах и рисунках ниже (Таблица 27-Таблица 30, Рисунок 91-Рисунок 93).

В опытных сериях на всех сроках отмечается тенденция повышения уровня гидроксипролина с увеличением концентрации коллагена в образцах: 1→2→3. В большинстве сравнений данная тенденция носила статистически значимый характер. Уровень гидроксипролина при подкожном размещении образцов, состоящих только из Na-КМЦ, в основном сопоставим с полученным в опытных группах (1-3). Однако отмечена тенденция к увеличению содержания гидроксипролина в тканях на 14-е и 28-е сутки эксперимента, что носило статистически значимый характер по сравнению с показателями опытной группы.

Изучение ГКГ показало существенное статистически значимое увеличение уровня гидроксипролина по сравнению с опытными группами. Как Surgicel Fibrillar, так и Тахокомб вызывали увеличение содержания гидроксипролина в соединительнотканной капсуле, по сравнению с полученным при подкожном размещении разработанных комбинированных образцов. Динамические изменения выраженности фиброзирующих процессов, проявляющиеся тем или иным уровнем гидроксипролина в тканях, характеризовались в опытных группах (1-3), группе с использованием Na-КМЦ (4), Surgicel Fibrillar (6) и Тахокомб (7) существенным увеличением на сроке 7 суток, в том числе, вероятно, и за счет альтерации при формировании карманов в подкожной клетчатке в процессе моделирования, еще более существенным и значимым увеличением на сроке 14 суток и выраженным снижением на сроке 28 суток. Процесс не подчинялся этому правилу лишь в 5-й группе, где использовалась ГКГ: уровень гидроксипролина в тканях, окружающих ГПКС, прогрессивно увеличивался от 7-х к 28-м суткам.

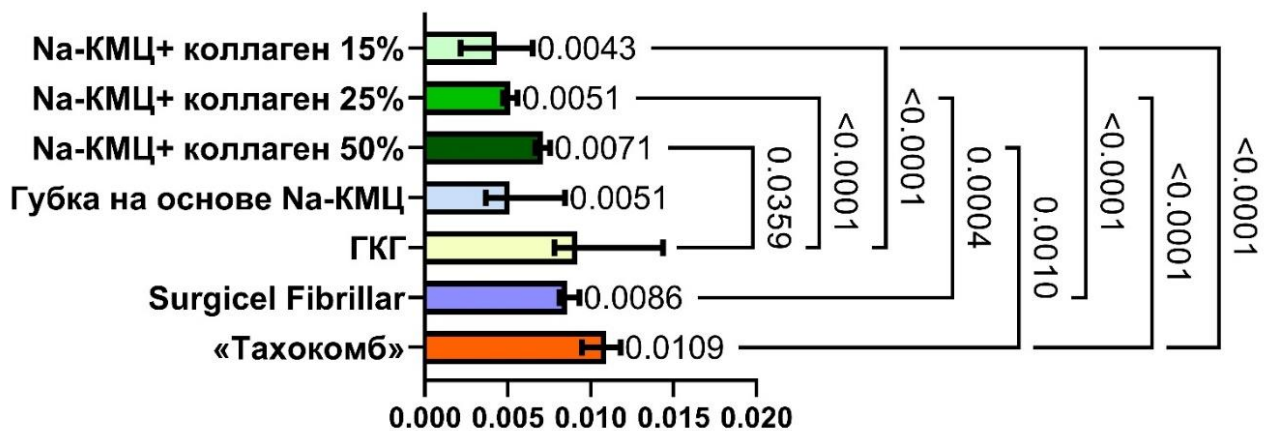


Рисунок 91 – Уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из зоны размещения ГПКС на 7-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

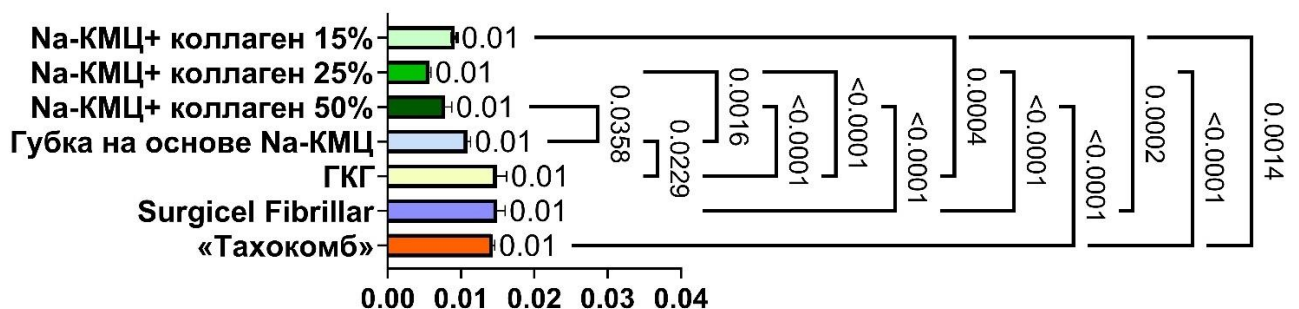


Рисунок 92 – Уровень гидроксипролина в гидролизате из зоны размещения ГПКС

на 14-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

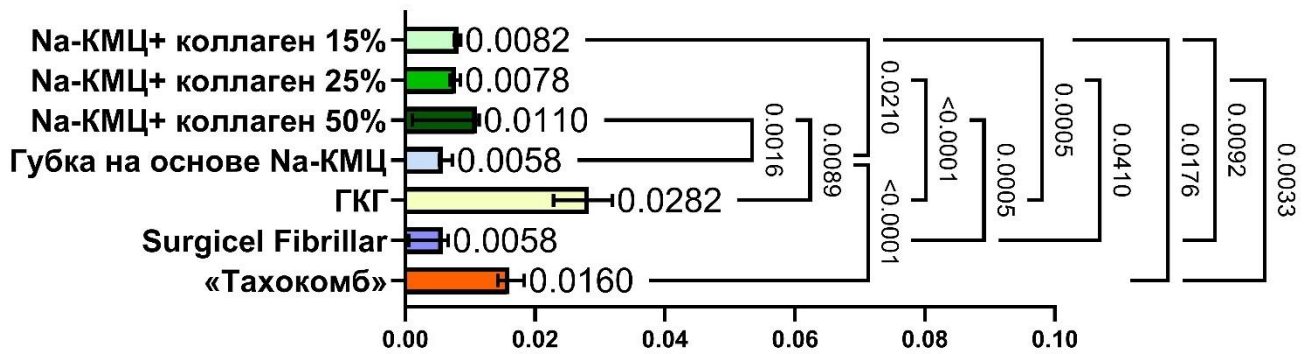


Рисунок 93 – Уровень гидроксипролина в гидролизате из зоны размещения ГПКС на 28-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

Таблица 27 – Уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из зоны размещения ГПКС на 7-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+коллаген 15%	0,004348	0,002699	0,005988	0,00431	0,001639	0,0005183
	Na-КМЦ+коллаген 25%	0,00513	0,004889	0,005349	0,005133	0,0002958	0,00009355
	Na-КМЦ+коллаген 50%	0,007126	0,006962	0,007453	0,007156	0,0002906	0,0000919
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	0,00513	0,004003	0,006806	0,00543	0,001635	0,000517
	Губка коллагеновая гемостатическая	0,009202	0,00807	0,009595	0,009414	0,001873	0,0005923
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	0,008578	0,008426	0,009139	0,008698	0,0003989	0,0001261
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	0,01094	0,009564	0,01137	0,01063	0,0009104	0,0002879

Таблица 28 – Уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из зоны размещения ГПКС на 14-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+коллаген 15%	0,009039	0,008868	0,009249	0,00916	0,0004715	0,0001491
	Na-КМЦ+коллаген 25%	0,005777	0,00523	0,00593	0,005656	0,0003588	0,0001135
	Na-КМЦ+коллаген 50%	0,008162	0,00695	0,008962	0,007793	0,001346	0,0004256

Продолжение Таблицы 28

Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	0,01103	0,01037	0,01136	0,01087	0,0005791	0,0001831
	Губка коллагеновая гемостатическая	0,01465	0,01355	0,01508	0,01489	0,001874	0,0005927
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	0,01506	0,01336	0,01629	0,01493	0,001496	0,0004732
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	0,01423	0,01411	0,01462	0,01437	0,0003136	0,00009918

Таблица 29 – Уровень гидроксипролина в гидролизате тканей из зоны размещения ГПКС на 28-е сутки после подкожного размещения, мкг/мл

		Медиана	25% Процентиль	75% Процентиль	Средняя величина	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка средней
Опыт	Na-КМЦ+коллаген 15%	0,008165	0,007886	0,008297	0,008092	0,0002805	0,00008869
	Na-КМЦ+коллаген 25%	0,007776	0,007097	0,008161	0,007703	0,0005524	0,0001747
	Na-КМЦ+коллаген 50%	0,01097	0,01029	0,01101	0,009786	0,003137	0,0009921
Контроль	Губка на основе Na-КМЦ	0,005765	0,005459	0,006421	0,005974	0,0006232	0,0001971
	Губка коллагеновая гемостатическая	0,02825	0,02729	0,03006	0,02829	0,002524	0,000798
Сравнение	Средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar	0,005783	0,003835	0,006374	0,004821	0,002315	0,000732
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	0,01604	0,01526	0,01802	0,01647	0,001544	0,0004882

Таблица 30 – Динамика уровня гидроксипролина в тканях из зоны размещения ГПКС, мкг/мл

		Опыт			Контроль		Сравнение	
		Na-КМЦ+ коллаген 15%	Na-КМЦ+ коллаген 25%	Na-КМЦ+ коллаген 50%	Губка на основе Na-КМЦ	Губка коллаген- новая гемоста- тическая	Средство кровооста- навливающее Surgicel Fibrillar	Пластина кровооста- навливающая «Тахокомб»
7-е сутки	25% Процентиль	0,005913	0,004889	0,006962	0,009273	0,009086	0,008426	0,009564
	Медиана	0,00611	0,00513	0,007126	0,009569	0,009469	0,008578	0,01094
	75% Процентиль	0,00628	0,005349	0,007453	0,009786	0,01523	0,009139	0,01137
14-е сутки	25% Процентиль	0,008868	0,00523	0,00695	0,01037	0,01457	0,01336	0,01411
	Медиана	0,009039	0,005777	0,008162	0,01103	0,01495	0,01506	0,01423
	75% Процентиль	0,009249	0,00593	0,008962	0,01136	0,02071	0,01629	0,01462
28-е сутки	25% Процентиль	0,007886	0,007097	0,01029	0,005459	0,01729	0,003835	0,01526
	Медиана	0,008165	0,007776	0,01097	0,005765	0,01819	0,005783	0,01604
	75% Процентиль	0,008297	0,008161	0,01101	0,006421	0,08267	0,006374	0,01802

* * *

Изучение биодegradации и реакции тканей на размещение образцов позволили выявить динамическое увеличение толщины капсулы вследствие созревания волокнистой ткани, постепенную деградацию ГПКС. В группе Na-КМЦ+коллаген 15% на всех сроках отмечается стабильная толщина капсулы, в группе Na-КМЦ+коллаген 25% она динамично уменьшается, и, наоборот, в группе Na-КМЦ+коллаген 50% отмечается увеличение толщины волокнистого слоя капсулы вокруг исследуемых образцов. Интегральная оценка клеточного состава капсулы свидетельствует об увеличении КИ во всех группах исследования (от 7 до 28 суток), что свидетельствует о преобладании соединительнотканного компонента капсулы над клеточно-воспалительным в динамике. Максимальные значения КИ выявлены в группе образцов ГКГ на 28-е сутки, Na-КМЦ + коллаген 50%, незначительно уступали показателям данного образца. Уровень же гидроксипролина в тканях увеличивался пропорционально увеличению концентрации коллагена в образцах опытных групп.

ГЛАВА 8. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ГУБЧАТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Основной задачей проведения данного этапа работы послужило изучение воздействия коллагена морского происхождения в разном соотношении с полимерной основой на паренхиму травмированной печени и окружающих ее органов и тканей брюшной полости. В связи с этим сравнительное изучение эффектов и возможных негативных влияний проводили со средствами, содержащими в своей структуре коллаген животного происхождения. Таким образом, на данном этапе исследования проводилось изучение эффектов только в пяти группах: в трех опытных (Na-КМЦ+ коллаген 15%, Na-КМЦ+ коллаген 25%, Na-КМЦ+ коллаген 50%), контрольной (ГКГ) и группе сравнения («Тахокомб»).

8.1. Клинические показатели лабораторных животных после моделирования травмы печени и применения образцов губчатых полимерных кровоостанавливающих средств

8.1.1. Показатели лабораторных тестов животных разных экспериментальных групп

У животных производили забор крови из яремной вены перед моделированием травмы печени интраоперационно и на 28-е сутки при аутопсии. Данные лабораторных анализов крови представлены на диаграммах и в таблице ниже (Рисунок 94-Рисунок 98, Таблица 31). Изученные показатели находились в пределах видовой и возрастной нормы.

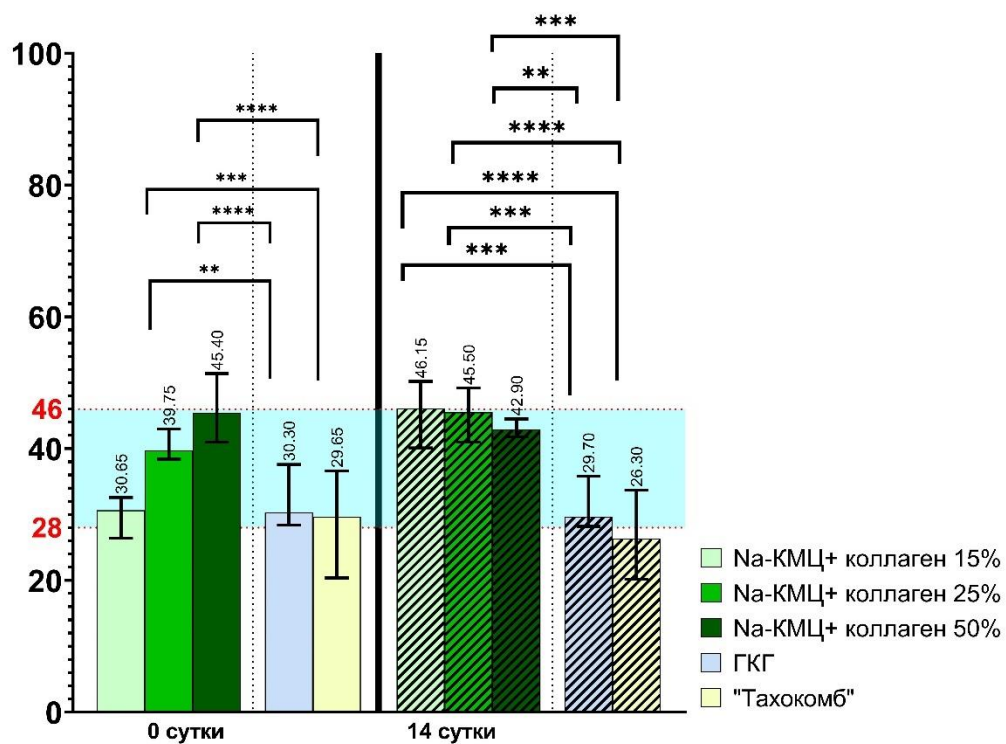


Рисунок 94 – Динамика уровня гематокрита у кроликов в послеоперационном периоде, %

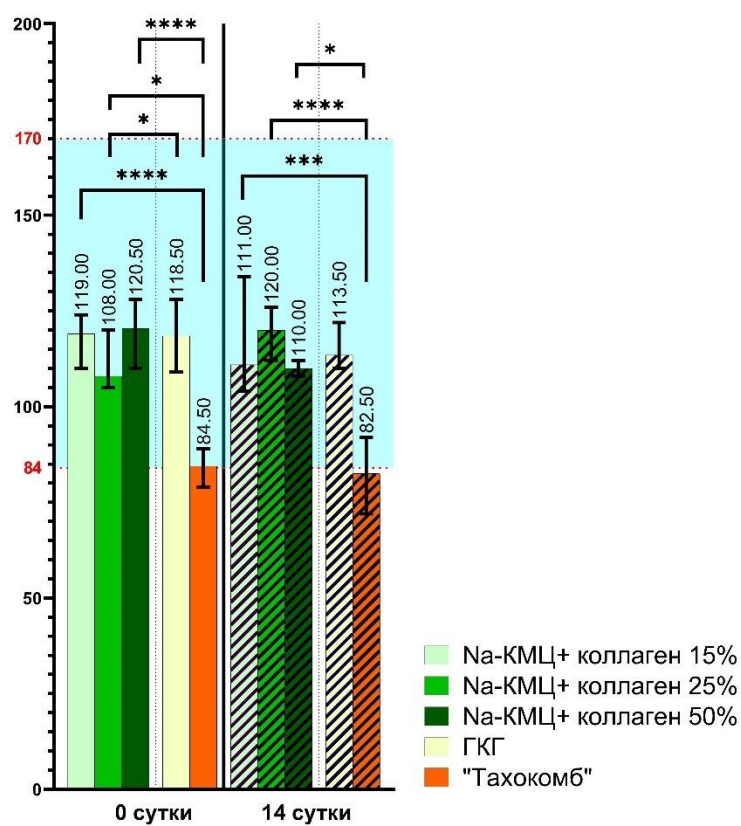


Рисунок 95 – Динамика уровня гемоглобина у кроликов в послеоперационном периоде, г/л

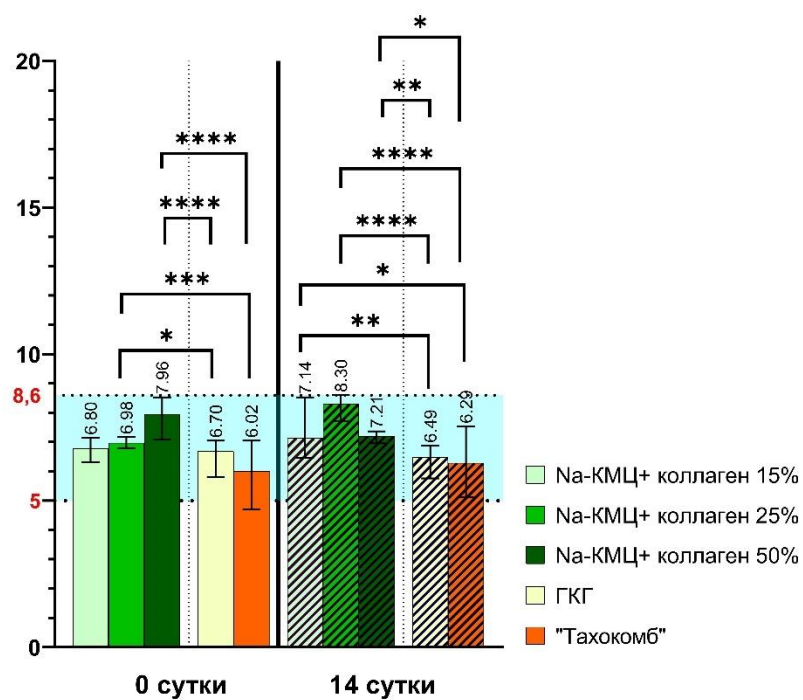


Рисунок 96 – Динамика количества эритроцитов у кроликов в послеоперационном периоде, $10^{12}/л$

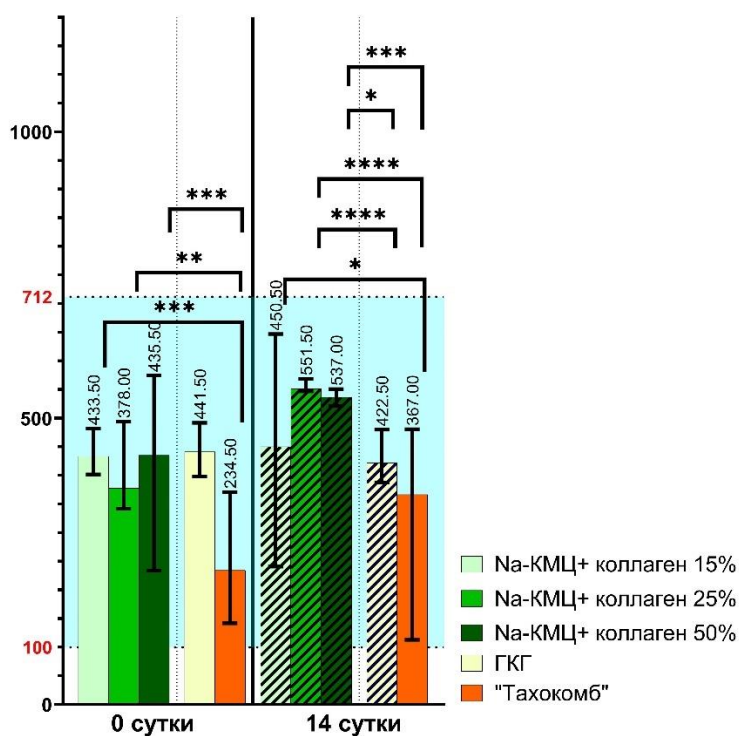


Рисунок 97 – Динамика количества тромбоцитов у кроликов в послеоперационном периоде, $10^9/л$

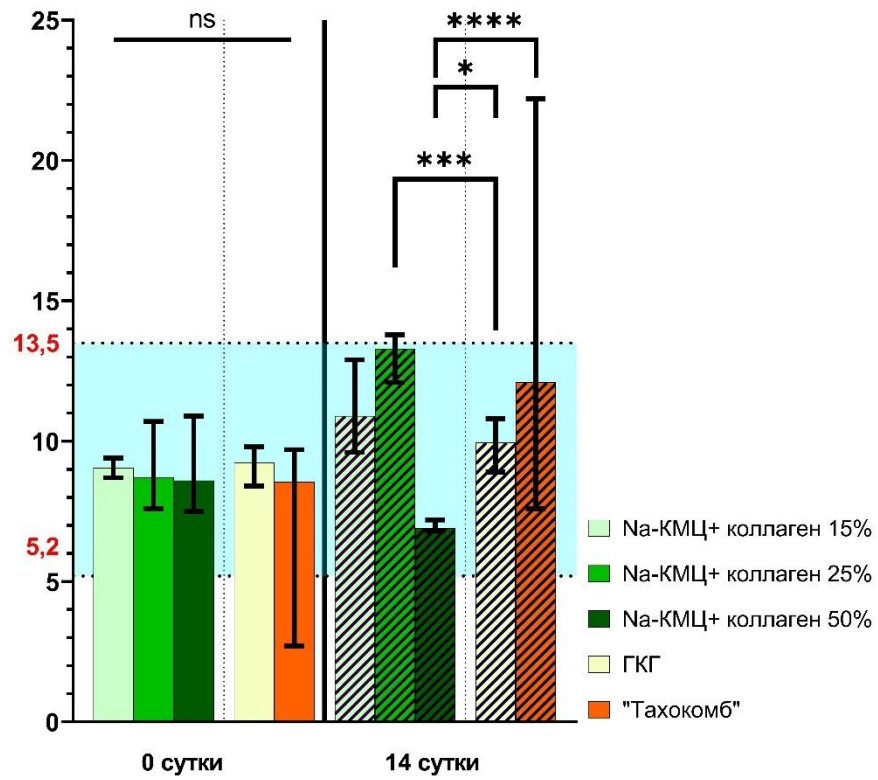


Рисунок 98 – Динамика количества лейкоцитов у кроликов в послеоперационном периоде, $10^9/\text{л}$

Таблица 31 – Показатели общего анализа крови у интактных животных перед проведением оперативного вмешательства с целью моделирования травм печени и перед выведением из эксперимента на 28-е сутки

			Na-KMЦ+ коллаген 15%	Na-KMЦ+ коллаген 25%	Na-KMЦ+ коллаген 50%	Губка коллагеновая гемостатическая	Пластина кровоостана- вливающая «Тахокомб»
Гематокрит, %	0 сутки	25% Процентиль	28,83	38,73	42,93	29,35	20,8
		Медиана	30,65	39,75	45,4	30,3	29,65
		75% Процентиль	32,28	41,25	48,85	33,83	31,03
	28-е сутки	25% Процентиль	41,05	41,83	41,98	28,6	23,15
		Медиана	46,15	45,5	42,9	29,7	26,3
		75% Процентиль	50,13	48,25	44,35	33,73	29,85
Гемоглобин, г/л	0 сутки	25% Процентиль	113,8	105	113,5	114,3	82
		Медиана	119	108	120,5	118,5	84,5
		75% Процентиль	121,3	112,5	126,5	123,3	88
	28-е сутки	25% Процентиль	105	117	108,8	110,8	78,5
		Медиана	111	120	110	113,5	82,5
		75% Процентиль	126	124,5	111,3	116	84,5
Эритроциты, 10 ¹² /л	0 сутки	25% Процентиль	6,443	6,928	7,535	6,56	4,803
		Медиана	6,795	6,98	7,96	6,695	6,015
		75% Процентиль	6,898	7,105	8,428	6,83	6,405
	28-е сутки	25% Процентиль	6,815	7,885	6,988	6,228	5,74
		Медиана	7,14	8,3	7,21	6,485	6,29
		75% Процентиль	8,175	8,45	7,335	6,603	6,95

Продолжение Таблицы 31

Тромбоциты, 10 ⁹ /л	0 сутки	25% Процентиль	418,8	351,3	370,3	429,5	194,3
		Медиана	433,5	378	435,5	441,5	234,5
		75% Процентиль	452,3	474	508,5	455,3	335,8
	28-е сутки	25% Процентиль	321	548,8	523,3	411,5	267
		Медиана	450,5	551,5	537	422,5	367
		75% Процентиль	569,5	566,3	547	446,5	414,8
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	0 сутки	25% Процентиль	8,8	7,9	7,75	8,875	6,975
		Медиана	9,05	8,7	8,6	9,25	8,55
		75% Процентиль	9,325	10,13	10,35	9,475	9,475
	28-е сутки	25% Процентиль	10,1	12,73	6,865	9,6	10,35
		Медиана	10,9	13,3	6,91	9,95	12,1
		75% Процентиль	12,83	13,6	7,025	10,45	16,98

8.1.2. Динамика макроморфологических изменений в области хирургического вмешательства по результатам КДЛ и аутопсии

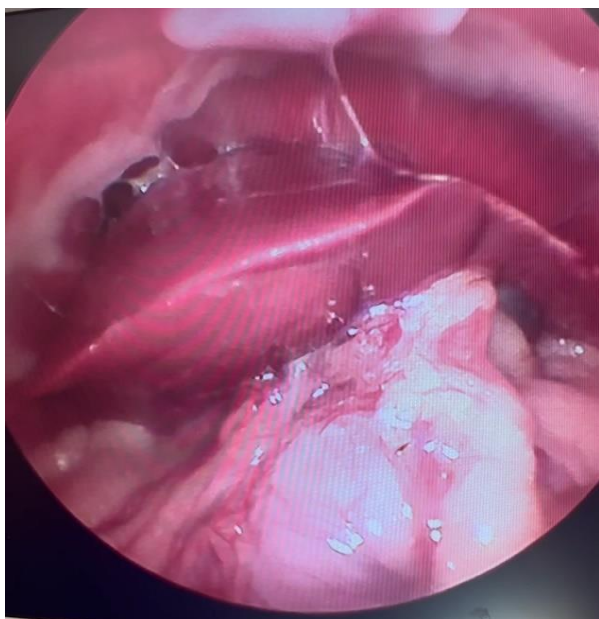
При сравнении полученных в результате контрольно-диагностической лапароскопии данных на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки в экспериментальных группах существенных отличий между группами не выявлено. Это свидетельствует об однотипности течения спаечного процесса в брюшной полости (СПБП) лабораторных животных при травме печени и последующей интраоперационной остановке кровотечения с использованием различных ГПКС. При этом важно отметить, что выраженность СПБП при использовании новых образцов ГПКС, ГКГ и «Тахокомб» не выражена и не имеет значимых отличий.

При детальном анализе изменений в брюшной полости, независимо от варианта моделирования травмы печени во всех группах исследования, спаечный процесс не выражен, отмечались единичные случаи фиксации пряди сальника к области расположения ГПКС в каждой из групп исследования. Также зону моделирования травмы и выстоящие фрагменты размещенных изделий удается идентифицировать с помощью только лапароскопа, установка дополнительных инструментов для достаточной визуализации не требовалась. Данное явление можно расценивать как реакцию организма на чужеродный агент. Тем не менее явлений кишечной непроходимости клинически и лапароскопически не выявлено. Данное явление подтверждает бытующее мнение об изолирующей, гемостатической и реваскуляризирующей роли сальника.

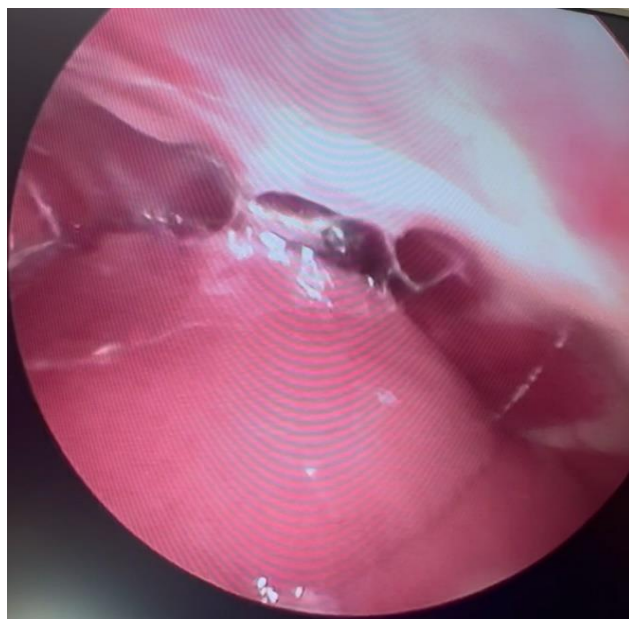
В целом макроскопические изменения ткани печени на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки после моделирования травмы печени проявлялись тем, что в группах исследования не обнаружены признаки кровотечения и деформации органов, в том числе петель кишечника.

В группе № 1 с использованием ГПКС на основе Na-КМЦ с добавлением 15% коллагена на 1-е и 3-и сутки отмечается наличие спаечных сращений по диафрагмальной поверхности печени, вероятно, вследствие постепенного разрушения ГПКС. Ткань печени не изменена, область размещения ГПКС не имеет

признаков кровотечения, отмечается незначительное количество организовавшихся сгустков крови в данной зоне, оставшихся с момента моделирования травмы печени. Наиболее отчетливо изменения отмечали при моделировании раны печени в толще ее средней доли ввиду обширного и глубокого повреждения паренхимы (Рисунок 99).



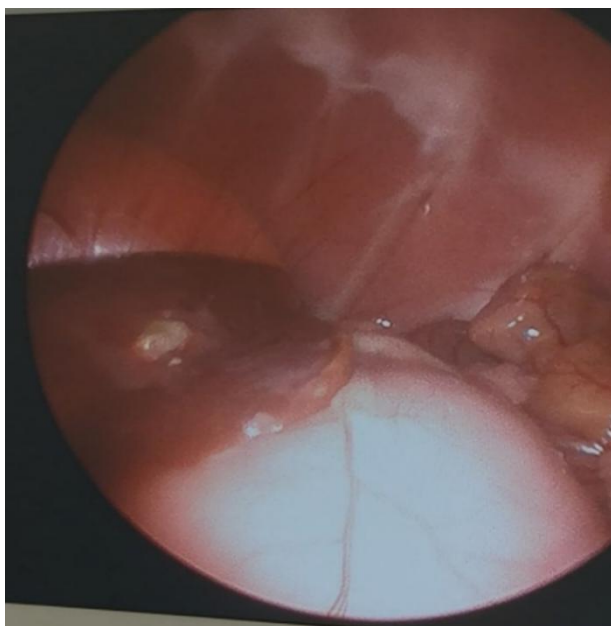
А



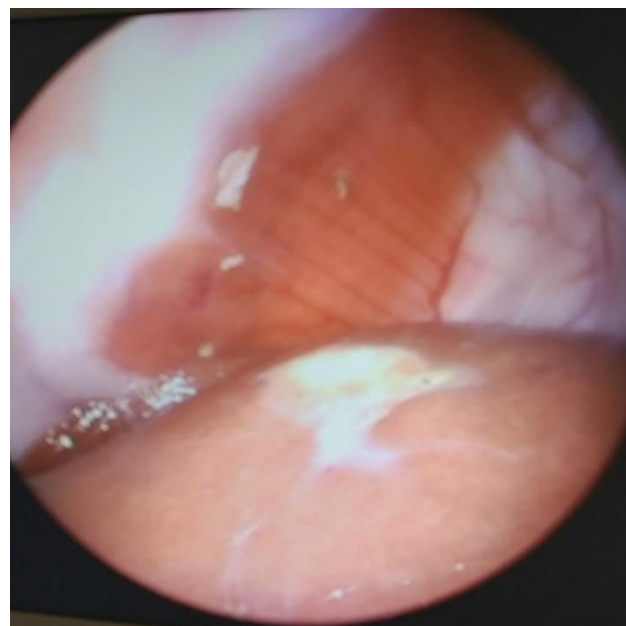
Б

Рисунок 99 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 1:
А – 1-е сутки после травмы печени, Б – 3-и сутки после травмы печени

На 7-е и 14-е сутки в данной группе описанные выше спаечные изменения не выражены, зона размещения ГПКС визуализируется без затруднений, отмечали признаки фиброзирования тканей печени (белые «венчики» перифокально образца) (Рисунок 100).



А



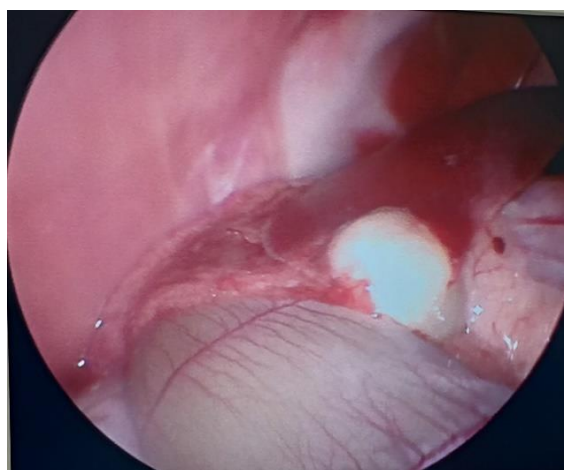
Б

Рисунок 100 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 1:
А – 7-е сутки после травмы печени, Б – 14-е сутки после травмы печени

В группе № 2 (с использованием ГПКС на основе Na-КМЦ с добавлением 25% коллагена) на 1-е сутки после операции в зоне травмы и размещения ГПКС визуализировались сгустки крови, которые к третьим суткам подвергались лизису, а полотно ГПКС набухало, имело гладкие края (Рисунок 101).



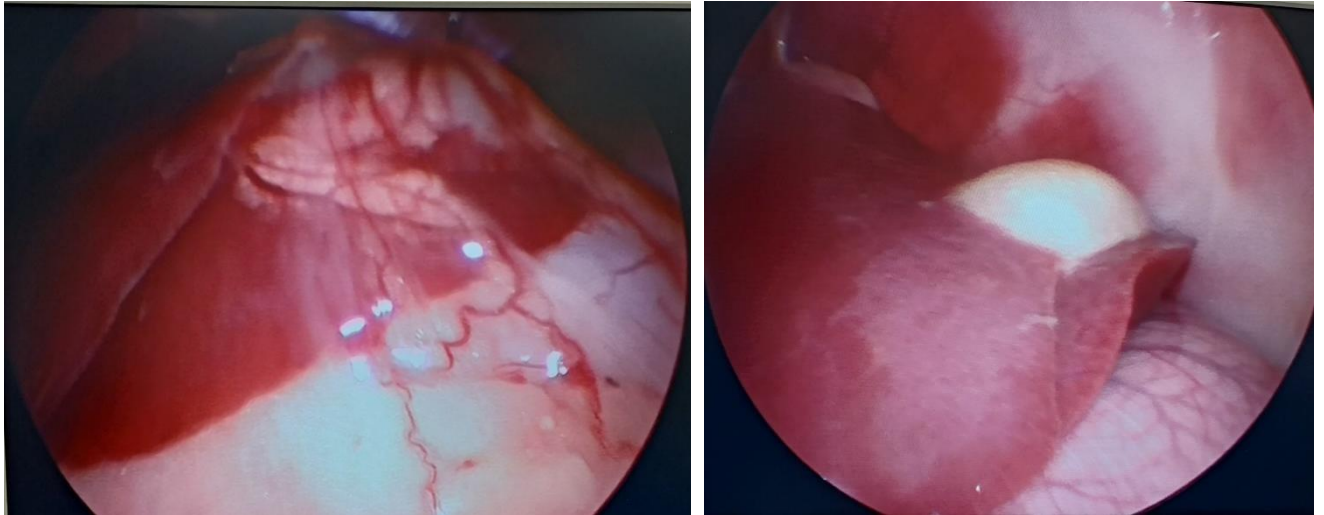
А



Б

Рисунок 101 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: А – 1-е сутки после травмы печени, Б – 3-и сутки после травмы печени

В данной группе на 7-е сутки после травмирования печени отмечали миграцию пряди сальника в область размещения ГПКС и плотную фиксацию к его поверхности по его контуру (отделение пряди сальника не проводилось). На 14-е сутки отмечался также фрагмент ГПКС, вокруг которого паренхима печени покрыта белесоватой пленкой (зона разрушения изделия) (Рисунок 102).



А

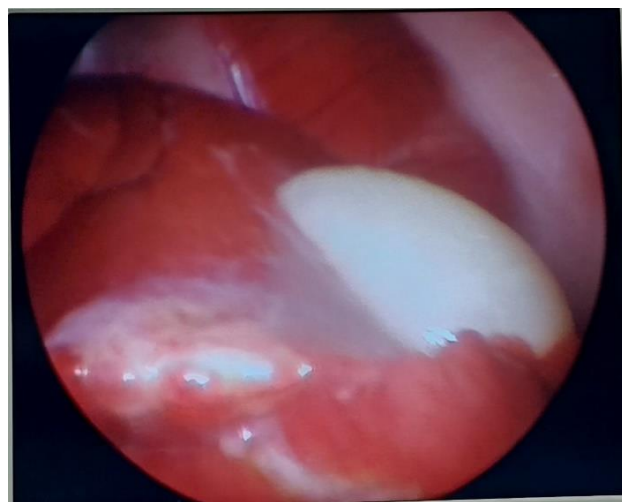
Б

Рисунок 102 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: А – 7-е сутки после травмы печени, Б – 14-е сутки после травмы печени

В группе № 3 (с использованием ГПКС на основе Na-КМЦ с добавлением 50% коллагена) спаечный процесс не был выражен в раннем периоде после моделирования травмы (первые трое суток), но при КДЛ на 3-и сутки отмечалась картина, схожая с таковой на 14-е сутки в других группах. Вероятно, более медленная биodeградация образца связана с увеличением концентрации коллагена, что приводит к подобным изменениям (Рисунок 103).



А



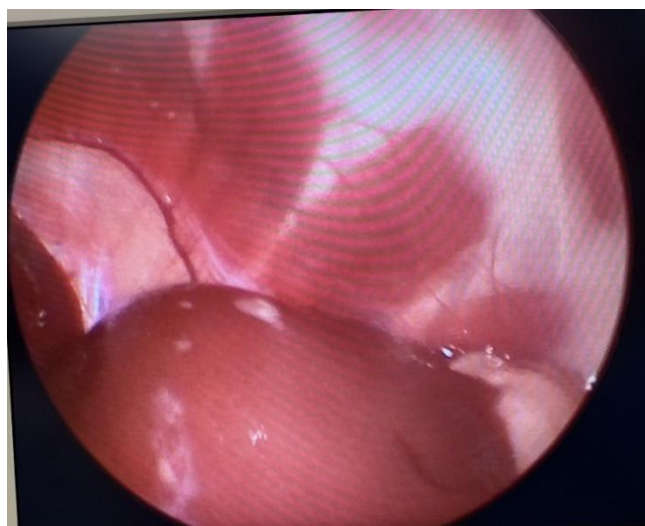
Б

Рисунок 103 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 3: А – первые сутки после травмы печени, Б – 3-и сутки после травмы печени

На более поздних сроках наблюдения в данной группе спаечный процесс в области размещения тестируемых образцов не выражен. Паренхима печени в зоне травматизации визуально менее изменена по сравнению с группами № 1 и № 2, отсутствовал белый венчик, окружающий фрагменты ГПКС (рисунок 102).



А



Б

Рисунок 104 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 3: А – 7-е сутки после травмы печени, Б – 14-е сутки после травмы печени

В группе № 4 (с использованием ГКГ) отмечалось фиброзирование тканей печени уже на ранних сроках (1-е и 3-и сутки после моделирования травмы печени), что подтверждалось разрастанием соединительной ткани (белые полосы в области

дефекта паренхимы и стояния средства), при этом визуально отмечалось набухание образца (Рисунок 105).

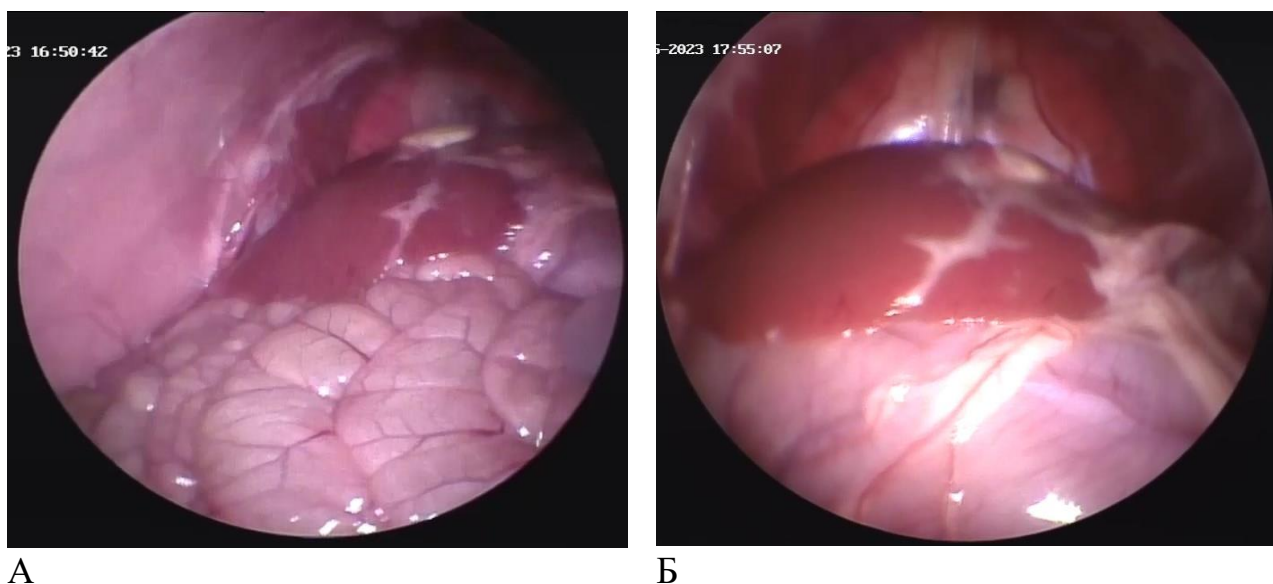
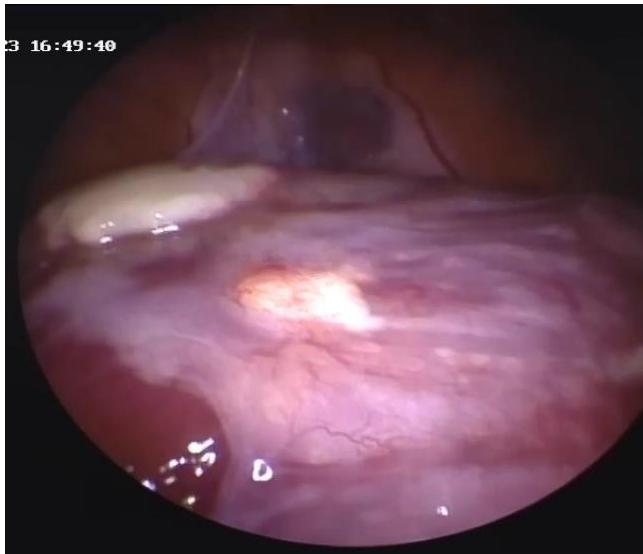
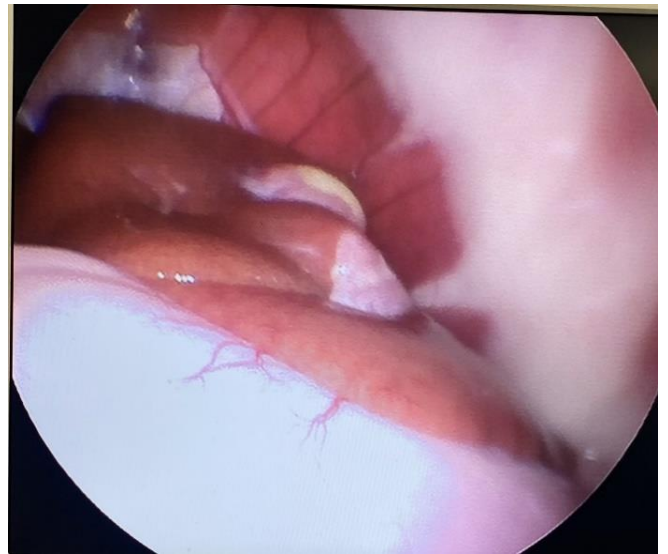


Рисунок 105 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 4:
А – 1-е сутки после травмы печени, Б – 3-и сутки после травмы печени

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 тестируемого изделия. Данные изменения практически полностью отсутствовали при КДЛ на 14-е сутки (Рисунок 106).



А



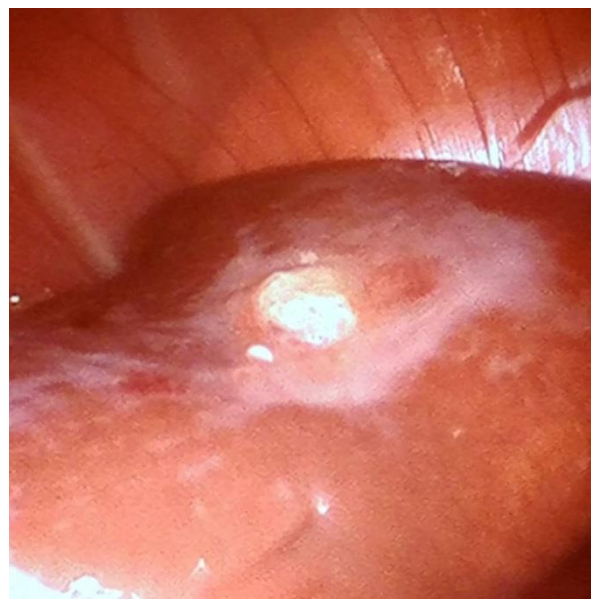
Б

Рисунок 106 – Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 4:
А – 7-е сутки после травмы печени, Б – 14-е сутки после травмы печени

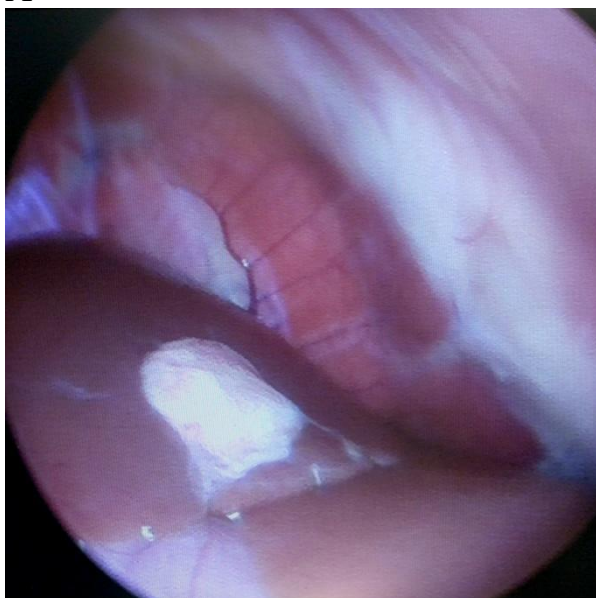
В группе № 5 (использование для остановки кровотечения пластины кровоостанавливающей «Тахокомб») на раннем сроке (1-е сутки) активное кровотечение отсутствовало, отмечалось небольшое количество сгустков нелизированной крови. На 3-и сутки после моделирования травмы идентифицировались участки печени, подвергшиеся травмированию, визуализировались фрагменты ГПКС в области правой и левой долей печени, косвенные признаки ишемии органа, заключающиеся в менее интенсивном ее окрашивании. Вокруг размещенных образцов отмечались зоны гемолиза (ярко-красного цвета). На 7-е сутки послеоперационного периода в местах применения образцов ГПКС присутствовали организовавшиеся сгустки крови. На 14-е сутки в зонах моделирования повреждения имеет место разрастание соединительной ткани – очаг белого цвета с неровными контурами, без четко определяемых фрагментов образцов и сгустков крови (Рисунок 107).



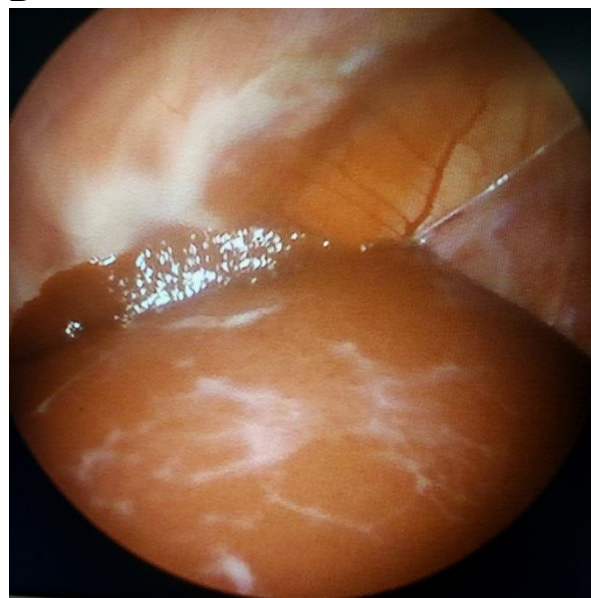
А



Б



В



Г

Рисунок 107 – Лапароскопия, группа № 5: А – 1-е сутки после травмы печени, Б – 3-и сутки после травмы печени, В – 7-е сутки после травмы печени, Г – 14-е сутки после травмы печени

На 28-е сутки в зоне травмы печени и применения для остановки кровотечения как опытных, так и контрольных образцов ГКПС, остатков инородного материала не визуализируется, 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.

Формирование спаечных сращений характеризовалось сращением

поверхностей органов, находящихся в зоне моделирования травматического повреждения печени. Эпицентром процесса служили точки локализации травмированной паренхимы и применения для остановки кровотечения ГПКС. Выпавший на раневых и прилежащих к ним поверхностях фибрин обусловил образование первоначальных спаек, которые в последующем претерпевали закономерную эволюцию, меняя свою морфологическую структуру в послеоперационном периоде от плоскостных к шнуровидным. Во всех группах в формировании СПБП принимал участие сальник. Однако в 1-й (Na-КМЦ+ коллаген 15%) и 2-й (Na-КМЦ+ коллаген 25%) группах у 4 животных из 10 при КДЛ не обнаружено образования сращений ни на одном из сроков эксперимента (Таблица 32). Выраженность СПБП при использовании разных образцов гемостатических средств в баллах колебалась от 0 до 2 баллов (Таблица 33). При проведении 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 (Таблица 34).

Таблица 32 – Количество животных со СПБП в разных сериях на 28-е сутки

	Опыт			Группы сравнения	
	Na-КМЦ+ коллаген 15%	Na-КМЦ+ коллаген 25%	Na-КМЦ+ коллаген 50%	Губка коллагеновая гемостатическая	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»
Количество животных со СПБП	6	6	10	10	10
Доля животных со СПБП	60%	60%	100%	100%	100%

Таблица 33 – Оценка выраженности СПБП при использовании разных образцов гемостатических средств в баллах (минимальная выраженность-максимальная выраженность)

		Опыт			Группы сравнения	
		Na-КМЦ+ коллаген 15%	Na-КМЦ+ коллаген 25%	Na-КМЦ+ коллаген 50%	Губка коллагеновая гемостатическая	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»
Деформация органов брюшной полости	3-и сутки	0-1	0-1	1-2	1-2	0-2
	7-е сутки	0-2	0-1	0-1	0-1	0-1
	14-е сутки	0-1	0-1	0-2	0-2	0-1
	28-е сутки	0-1	0-1	1-2	1-2	0-1
Морфологическая организация спаек	3-и сутки	0-1	0-2	1-1	1-1	0-1
	7-е сутки	0-1	0-2	1-2	0-2	0-2
	14-е сутки	0-1	0-2	1-2	1-2	0-1
	28-е сутки	0-1	0-2	1-2	1-2	0-2
Распространенность СПБП	3-и сутки	1-2	1-2	1-2	1-2	1-2
	7-е сутки	0-2	0-2	1-2	1-2	1-2
	14-е сутки	0-1	0-1	1-2	1-2	1-2
	28-е сутки	0-1	0-1	1-2	1-2	1-2

Таблица 34 – Суммы рангов в группах животных при оценке выраженности СПБП в баллах

		Опыт						Группы сравнения			
		Na-КМЦ+ коллаген 15%		Na-КМЦ+ коллаген 25%		Na-КМЦ+ коллаген 50%		Губка коллагеновая гемостатическая		Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	
Деформация органов брюшной полости	3-и сутки	17	67	14	58	25	85	25	83	22	69
	7-е сутки	19		15		18		17		15	
	14-е сутки	15		14		19		18		15	
	28-е сутки	16		15		23		23		17	
Морфологи- ческая организация спаек	3-и сутки	13	55	17	68	20	88	20	87	17	70
	7-е сутки	15		17		22		21		17	
	14-е сутки	16		17		23		23		18	
	28-е сутки	11		17		23		23		18	
Распростра- ненность СПБП	3-и сутки	21	70	21	70	24	94	24	94	23	92
	7-е сутки	16		16		23		23		23	
	14-е сутки	17		17		24		24		22	
	28-е сутки	16		16		23		23		24	
Общая сумма рангов		192		196		267		264		231	

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 (Таблица 34). Однако отличия между группами, по суммарной оценке, выраженности СПБП не носили статистически значимого характера (Таблица 35).

Таблица 35 – Матрица уровней статистической значимости (p) различий сумм рангов выраженности СПБП при использовании различных образцов кровоостанавливающих средств

		Опыт			Группы сравнения	
		15% Коллаген + КМЦ	25% Коллаген + КМЦ	50% Коллаген + КМЦ	Губка коллагеновая гемостатическая	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»
Опыт	Na-КМЦ+ коллаген 15%					
	Na-КМЦ+ коллаген 25%	0,37				
	Na-КМЦ+ коллаген 50%	0,6	0,86			
Группы сравнения	Губка коллагеновая гемостатическая	0,58	0,89	0,99		
	Пластина кровоостанавливающая «Тахокомб»	0,54	0,57	0,566	0,62	

Тем не менее, нами обнаружены значимые отличия между отдельными параметрами выраженности СПБП на разных сроках эксперимента.

Так, в 3-й серии при использовании для остановки кровотечения ГПКС

(Na-КМЦ+ коллаген 50%) и в 4-й серии (ГКГ) отмечены значимые отличия динамики: уменьшение выраженности деформации органов на 3-и сутки по сравнению с 1-ми, увеличение на 7-е по сравнению с 3-ми и увеличение на 14-е сутки по сравнению с 7-ми. Похожая тенденция отмечена при использовании пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» (серия 5), статистически значимыми были отличия деформации органов между сроками эксперимента: 1-е и 3-и сутки, 1-е и 7-е сутки (Рисунок 108).

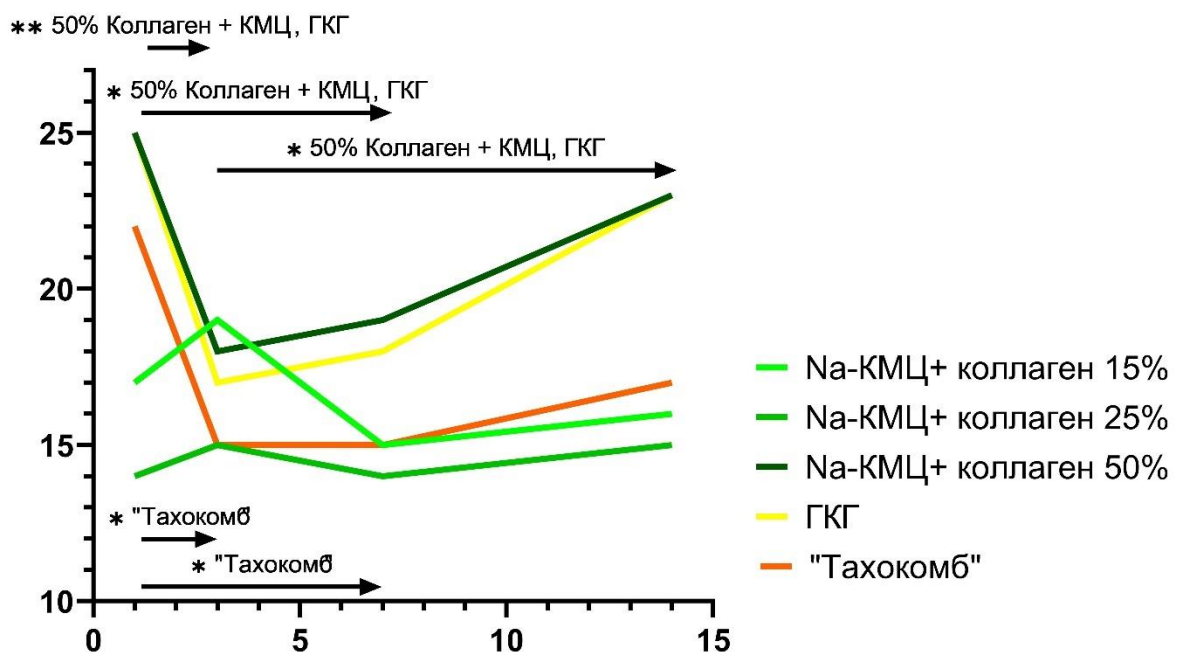


Рисунок 108 – Динамика ранговой оценки деформации органов

Статистически значимое уменьшение степени морфологической организации спаек отмечено при использовании для остановки кровотечения опытного образца № 1 (Na-КМЦ+ коллаген 15%) между значениями этого показателя на 3-и и 14-е сутки, а также на 7-е и 14-е сутки эксперимента (Рисунок 109).

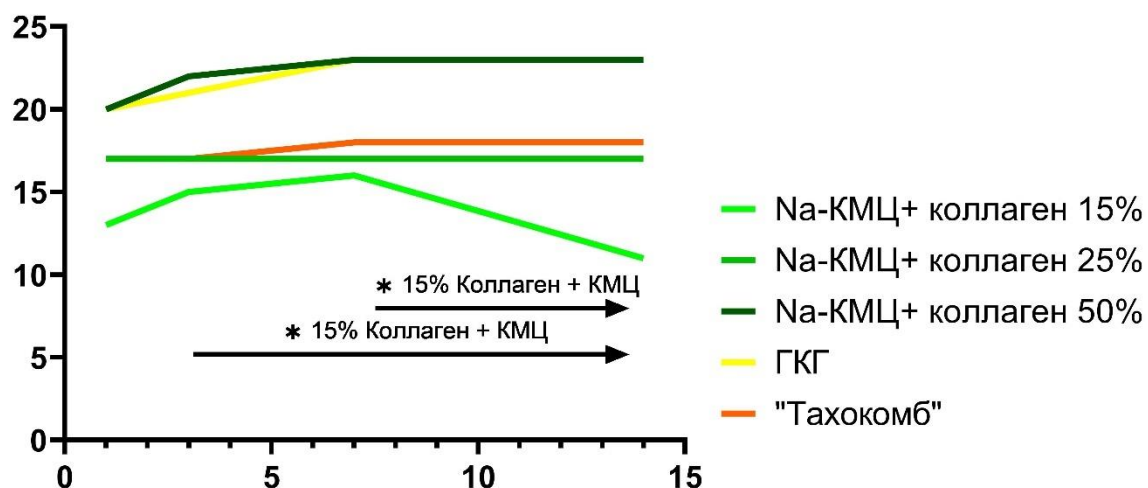


Рисунок 109 – Динамика ранговой оценки морфологической организации спаек

Распространенность спаек позволила обнаружить содружественную тенденцию в соответствии с конфигурацией кривых на приведенном графике (Рисунок 110): 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-KMЦ+ коллаген 15%) и № 2 (Na-KMЦ+ коллаген 25%).

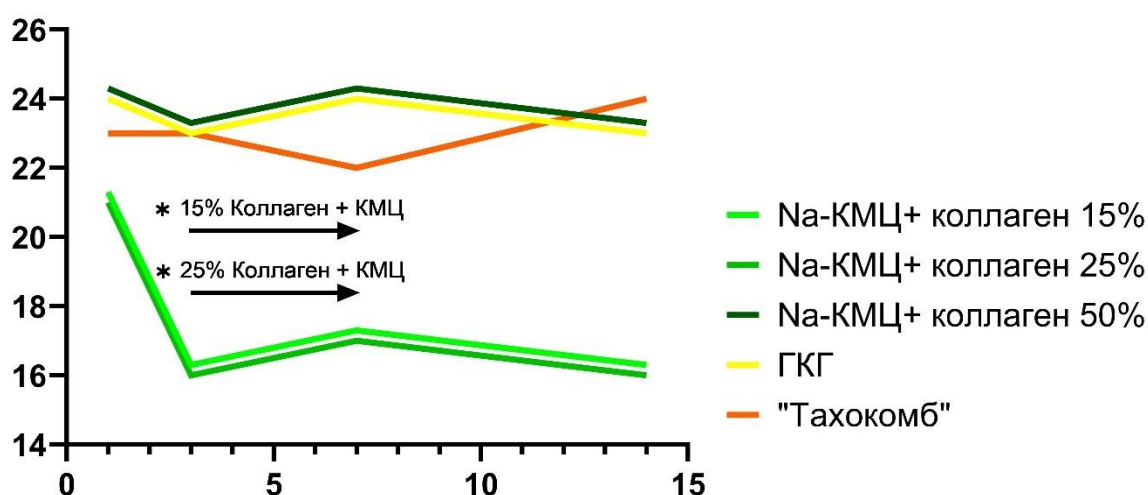


Рисунок 110 – Динамика ранговой оценки распространенности СПБП

8.2. Гистологическая характеристика реакции ткани печени на размещение губчатых полимерных кровоостанавливающих средств после моделирования травмы в эксперименте

8.2.1. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели травматической полости в толще средней доли печени

Анализ препаратов животных на 28-е сутки наблюдения после моделирования раны в толще паренхимы печени и гемостаза с помощью образца № 1 (Na-КМЦ + коллаген 15%) показал, что весь объем раневого канала заполнен зрелой плотной волокнистой соединительной тканью. Плотность и качественный состав клеточной популяции не имеет видимых отличительных особенностей в центре и на периферии раневого канала. Такое состояние соединительной ткани и отсутствие реакции со стороны прилежащих к зоне модельного повреждения печени ее паренхимы позволяет сделать вывод о полном завершении резорбции размещенных материалов и начале ремоделирования соединительнотканного регенерата (Рисунок 111).

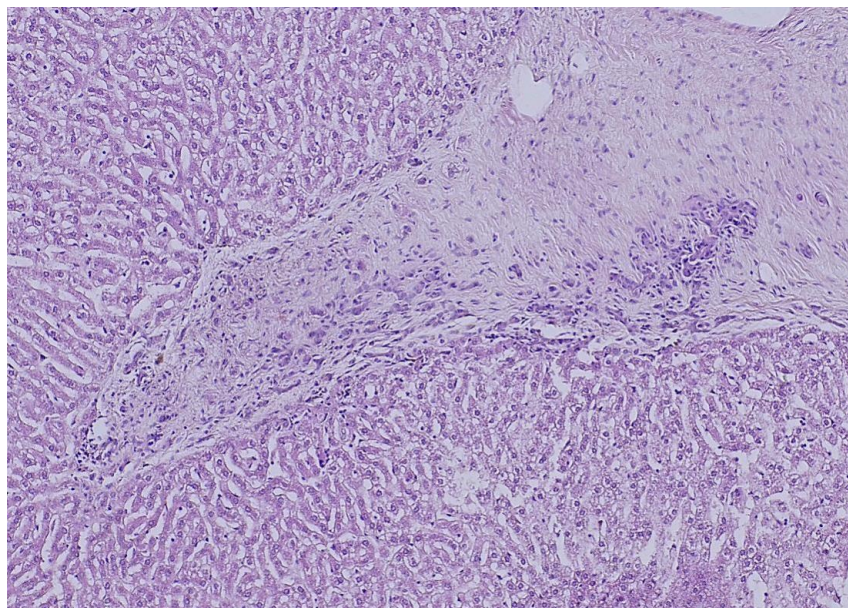


Рисунок 111 – Микрофотография. 28 суток после моделирования травматической полости в толще средней доли печени и введения образца Na-КМЦ + коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

8.2.2. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели краевой раны правой доли печени

При изучении гистологических препаратов животных этой группы на 28-е сутки наблюдения после моделирования краевой раны правой доли печени и размещения образца № 1 установлено, что весь периметр и объем раневого повреждения занят скоплением плотной волокнистой соединительной ткани. Пучки зрелых коллагеновых волокон разнонаправлены и в пограничных с паренхимой печени слоях регенерата интегрированы в строю органа. Степень зрелости волокон одинакова во всем объеме регенерата. Остатков тестируемого материала не обнаружено. Клеточный компонент представлен фиброцитами и фибробластами различной степени зрелости с преобладанием зрелых форм. Количество полиморфноядерных лейкоцитов и их распределение в объеме регенерата соответствовали морфологической картине нормального строения ПВСТ (Рисунок 112).

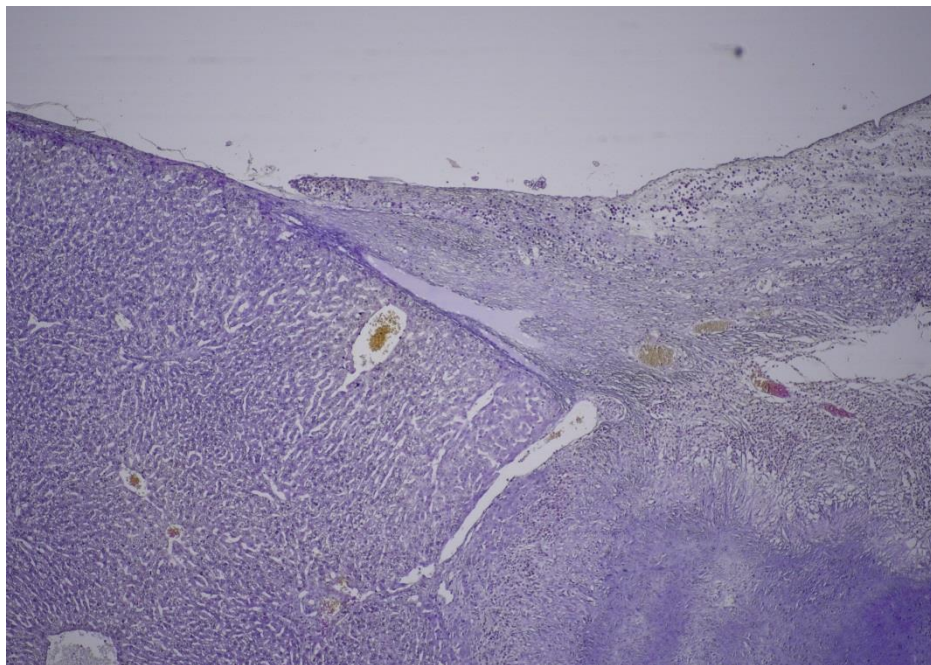


Рисунок 112 – Микрофотография. 28 суток после моделирования краевой раны правой доли печени и введения образца Na-КМЦ + коллаген 15%. Окраска гематоксилин-эозином.
Ув. x100

8.2.3. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 15% на модели поверхностной раны левой доли печени

У всех животных этой группы установлено, что вся площадь экспериментального повреждения покрыта тонким слоем плотной волокнистой соединительной ткани равномерной толщины по всему периметру модельной раны. Нерезорбированных остатков ГПКС не обнаружено. В прилежащих отделах паренхимы печени отмечается слабо выраженная гидропическая дистрофия гепатоцитов. У одного животного отмечается умеренно выраженное расширение синусоидных капилляров вследствие взаимной интеграции регенерата и стромы печени с незначительной деформацией последней (Рисунок 113).

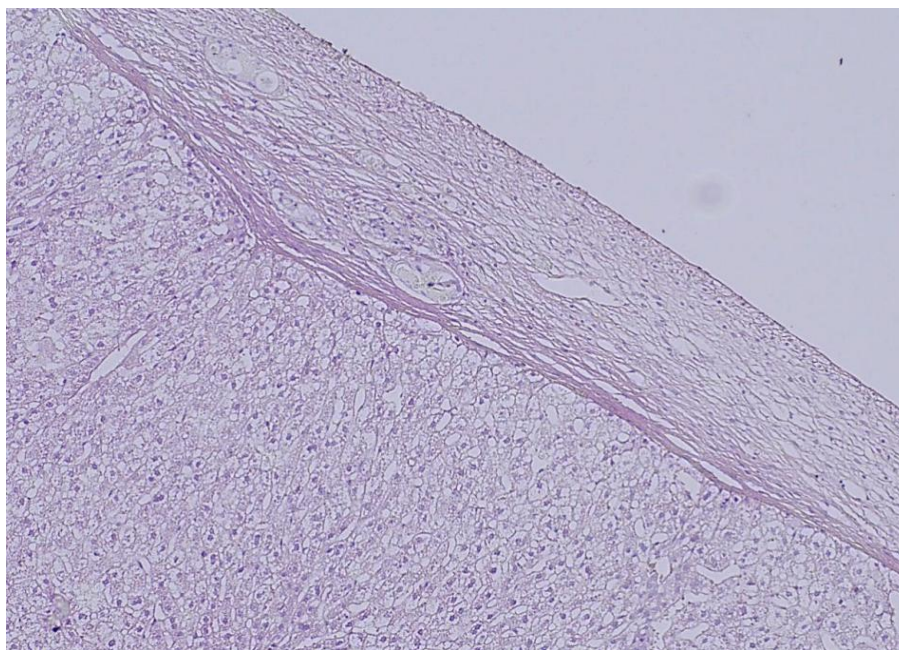


Рисунок 113 – Микрофотография. 28 суток после моделирования поверхностной раны левой доли печени и размещения образцов Na-КМЦ + коллаген 15%.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100

8.2.4. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели травматической полости в толще средней доли печени

Анализ препаратов от животных на 28-е сутки наблюдения после моделирования раны в толще паренхимы печени и гемостаза с помощью образца

№ 2 (Na-КМЦ + коллаген 25%) показал, что соединительнотканый регенерат представляет собой зрелую плотную волокнистую соединительную ткань, в которой обнаружены кровеносные сосуды микроциркуляторного русла регенерата и расширенные лимфатические капилляры. Клеточный компонент ткани представлен в основном фиброцитами и зрелыми фибробластами. Встречались малые и средние лимфоциты, макрофаги и единичные полиморфно-ядерные лейкоциты. Тем не менее, по всему периметру регенерата обнаружены очаги гидропической дистрофии гепатоцитов различной степени выраженности и протяженности. Общая морфологическая картина регенерата в области моделирования повреждения печени свидетельствует о полном завершении гистотипической регенерации паренхимы печени и продолжающейся стадии ремоделирования соединительнотканного регенерата (Рисунок 114).

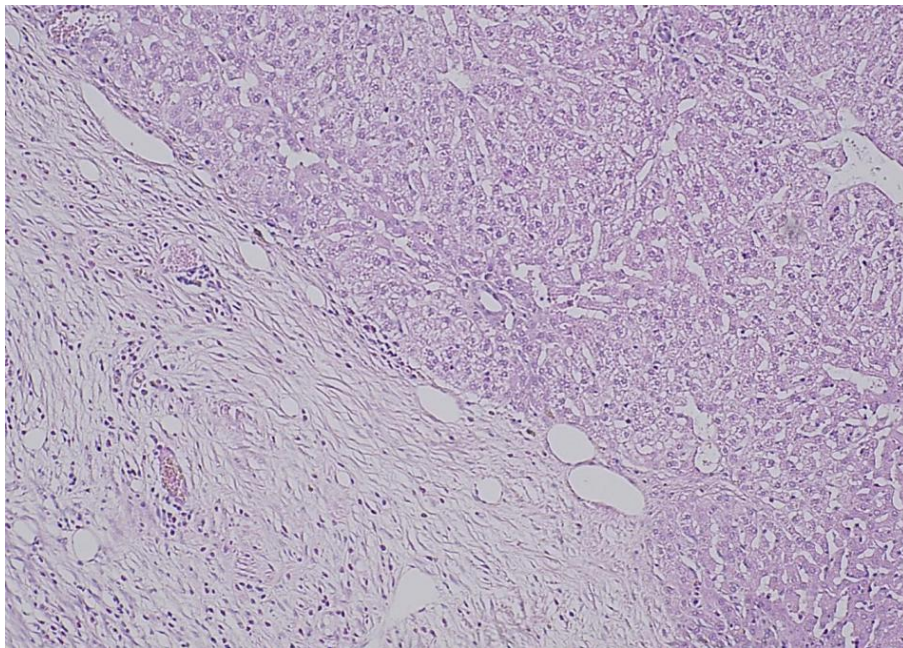


Рисунок 114 – Микрофотография. 28 суток после моделирования травматической полости в толще средней доли печени и размещения образцов Na-КМЦ + коллаген 25%. Гидропическая дистрофия гепатоцитов в паренхиме печени, прилежащей к соединительнотканному регенерату. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

8.2.5. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели краевой раны правой доли печени

На 28-е сутки наблюдения после моделирования раны и гемостаза с помощью образца № 2 (Na-КМЦ + коллаген 25%) соединительнотканый регенерат в области раневого дефекта построен из плотной волокнистой соединительной ткани. Клетки представлены фиброцитами и зрелыми фибробластами. Отмечались все виды клеток-нерезидентов без каких-либо особенностей в части их качественных и количественных характеристик. Состав клеточной популяции соответствует норме плотной волокнистой соединительной ткани.

По периметру регенерата обнаружены очаги гидропической дистрофии от незначительной до умеренной степени выраженности. Признаков деформации и дискомплексации печеночных балок не выявлено. Все вышеуказанное свидетельствует о полном завершении гистотипической регенерации паренхимы печени и продолжающейся стадии ремоделирования соединительнотканного регенерата.

8.2.6. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 25% на модели поверхностной раны левой доли печени

Как и в серии исследования с образцом №1, в этой группе животных на 28-е сутки наблюдения вся площадь экспериментального повреждения также покрыта тонким слоем плотной волокнистой соединительной ткани. Остатков ГПКС в толще регенерата и в прилежащей паренхиме печени нет. В прилежащих отделах паренхимы печени отмечается гидропическая дистрофия гепатоцитов. Причем объем измененной паренхимы больше по сравнению с группой № 1. В очагах гидропической дистрофии также отмечается умеренно выраженное расширение синусодных капилляров (Рисунок 115).

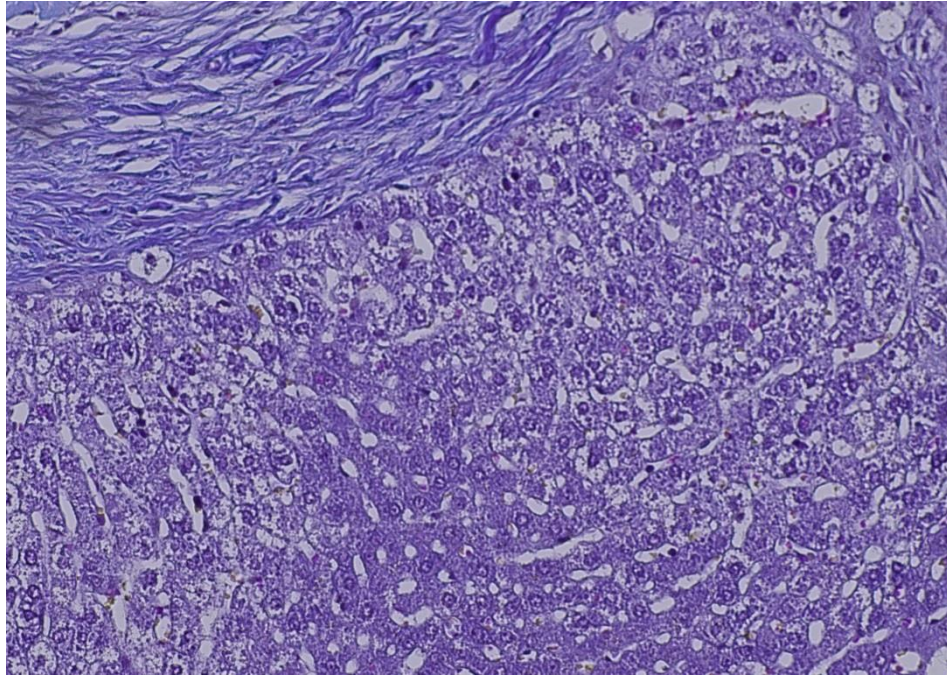


Рисунок 115 – Микрофотография. 28 суток после моделирования поверхностной раны правой доли печени и размещения образцов Na-КМЦ + коллаген 25%.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

8.2.7. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели травматической полости в толще средней доли печени

Анализ препаратов от животных на 28-е сутки наблюдения после моделирования раны в толще паренхимы печени и гемостаза с помощью образца № 3 (Na-КМЦ + коллаген 50%) показал, что, как и в сериях исследования с образцами №№ 1 и 2, весь объем модельной раны занимает соединительнотканый регенерат, сформированный на месте полностью резорбированного ГПКС. Регенерат образован зрелой плотной волокнистой соединительной тканью. Основной объем его сформирован параллельно ориентированными пучками зрелых коллагеновых волокон, среди которых определялись ядра клеток фибробластического дифферона (фиброциты и зрелые фибробласты), среди которых преобладали фиброциты. В прилежащем к регенерату объеме печеночной паренхимы отмечались явления слабо выраженной гидропической дистрофии гепатоцитов и умеренное расширение синусоидных капилляров. Все это позволяет сделать вывод о полной завершенности резорбции образца №3 и

развитии на его месте соединительнотканного регенерата, подвергающегося перестройке и реаранжировке волокнистого компонента в соответствии с локальными биомеханическими обстоятельствами (Рисунок 116).

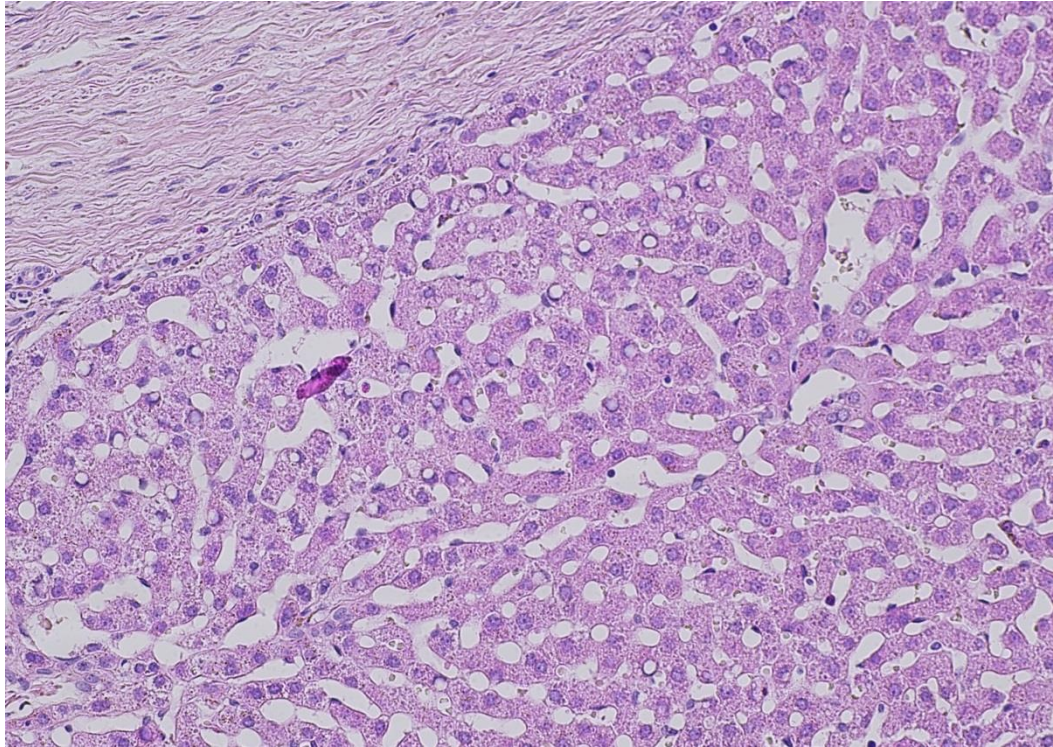


Рисунок 116 – Микрофотография. 28 суток после моделирования травматической полости в толще средней доли печени и размещения образцов Na-КМЦ + коллаген 50%. Слабо выраженная гидропическая дистрофия гепатоцитов в паренхиме печени, прилежащей к соединительнотканному регенерату. Расширение синусоидных капилляров. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

8.2.8. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели краевой раны правой доли печени

Анализ морфологической картины формирования регенерата на месте образца №3 после моделирования краевой раны правой доли печени показал, что весь объем раневого повреждения занят разнонаправленными пучками коллагеновых волокон. При этом степень зрелости волокон одинакова как в пределах одного пучка, так во всем объеме регенерата. Клеточный компонент представлен в основном фиброцитами и фибробластами с преобладанием зрелых форм. Отмечали единичные активные макрофаги, мигрирующие в направлении

лимфатических сосудов. Последнее свидетельствует о продолжающейся фазе ремоделирования соединительнотканного регенерата.

8.2.9. Результаты применения образцов Na-КМЦ + коллаген 50% на модели поверхностной раны левой доли печени

По сравнению с группами наблюдения 1 и 2, в группе животных с применением образца №3 на 60-е сутки наблюдения вся площадь экспериментального повреждения также покрыта тонким слоем плотной волокнистой соединительной ткани. В прилежащих отделах паренхимы печени отмечается умеренно выраженное расширение синусоидных капилляров (Рисунок 117).

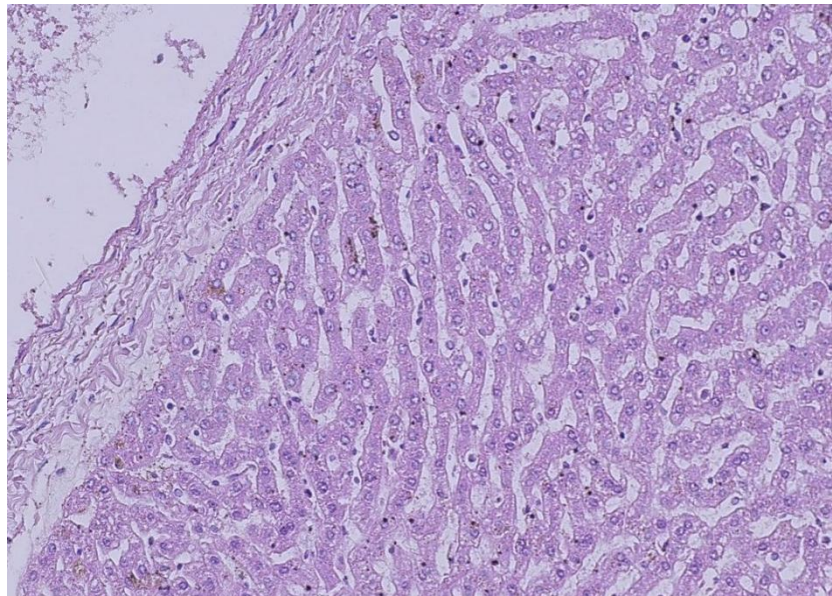


Рисунок 117 – Микрофотография. Образец 3 (Na-КМЦ + коллаген 50%), 60 суток после моделирования поверхностной раны левой доли печени. Умеренно выраженное расширение синусоидных капилляров. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

8.2.10. Результаты применения образцов губки коллагеновой
гемостатической на модели травматической полости
в толще средней доли печени

В гистологических препаратах животных, выведенных на 28-е сутки после моделирования травмы и размещения ГКГ, на месте резорбированного ГПКС, определяется соединительнотканый регенерат, сформированный зрелой плотной волокнистой соединительной тканью. Волокнистый компонент регенерата представляет собой упорядоченные пучки зрелых коллагеновых волокон. Клетки представлены в основном фиброцитами. Встречались в небольшом количестве зрелые фибробласты и полиморфноядерные лейкоциты. Последние обнаруживались в поверхностных слоях регенерата, непосредственно прилегающих к паренхиме печени. Следует отметить слабо выраженную гидропическую дистрофию гепатоцитов на фоне умеренного расширения синусоидных капилляров в объеме паренхимы, соприкасающейся с регенератом. Остатков нерезорбированного материала ГПКС в регенерате и в окружающей паренхиме печени не обнаружено. Таким образом, резорбцию ГКГ в травматической полости следует считать завершенной полностью. Морфологическую картину состояния регенерата на месте ГКГ следует считать соответствующей стадии ремоделирования (Рисунок 118).

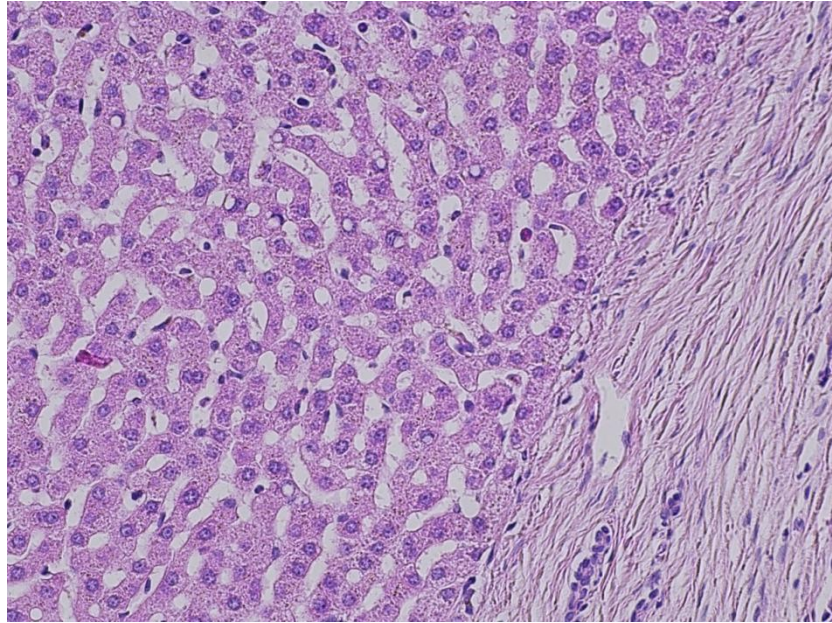


Рисунок 118 – Микрофотография. 28 суток после моделирования травматической полости в толще средней доли печени и размещения губки коллагеновой гемостатической. Слабо выраженная гидропическая дистрофия гепатоцитов в паренхиме печени, прилежащей к соединительнотканному регенерату. Умеренно выраженное расширение синусоидных капилляров. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200

8.2.11. Результаты применения образцов губки коллагеновой гемостатической на модели краевой раны правой доли печени

На 28-е сутки после размещения ГКГ в экспериментальном раневом дефекте на месте полностью резорбированного ГПКС определяется плотная волокнистая соединительная ткань. Пучки коллагеновых волокон ориентированы вдоль поверхности паренхимы печени. Небольшая часть пучков входит в строму, окружающую пограничные с зоной оперативного вмешательства дольки и интегрируется в нее. Клеточная популяция представлена клетками резидентами (фиibroцитами и небольшим количеством зрелых фибробластов) и клетками – нерезидентами. Среди последних – все виды ПЯЛ. В паренхиме печени в участках, непосредственно контактирующих с регенератом, можно отметить слабо выраженную гидропическую дистрофию на фоне умеренного расширения синусоидных капилляров.

8.2.12. Результаты применения образцов губки коллагеновой гемостатической на модели поверхностной раны левой доли печени

На 28-е сутки наблюдения по всей площади экспериментальной раны отмечается слой плотной волокнистой соединительной ткани от 150 до 210 мкм толщины в разных отделах. Остатков нерезорбированного материала ГПКС не обнаружено. В пограничных к регенерату отделах паренхимы печени отмечается умеренно выраженная очаговая гидропическая дистрофия гепатоцитов в пределах отдельных долек (Рисунок 119).

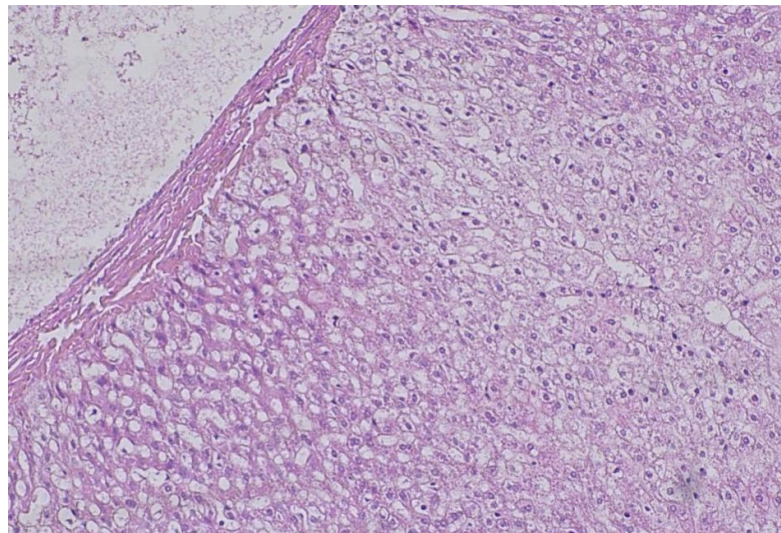


Рисунок 119 – Микрофотография. 28 суток после моделирования поверхностной раны левой доли печени и размещения губки коллагеновой гемостатической. Очаговая гидропическая дистрофия и умеренное расширение синусоидных капилляров. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100

8.2.13. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели травматической полости в толще средней доли печени

В гистологических препаратах от животных, выведенных на 28-е сутки после введения «Тахокомб», в области его размещения остатков нерезорбированного материала не обнаружено. Вся травматическая полость заполнена соединительнотканым регенератом из зрелой плотной волокнистой соединительной ткани. Пучки волокон регенерата продолжались в

соединительнотканную строму печени, что, по-видимому, меняет вектор механической напряженности и приводит к деформации структуры печеночных долек, граничащих с регенератом. В результате этого в таких дольках отмечается расширение синусоидных капилляров во всех отделах долек. Клеточный компонент регенерата представлен главным образом фиброцитами. Встречались в небольшом количестве зрелые фибробласты и полиморфно-ядерные лейкоциты. Таким образом, резорбцию размещенной в травматической полости пластины «Тахокомб» можно считать завершенной (Рисунок 120).

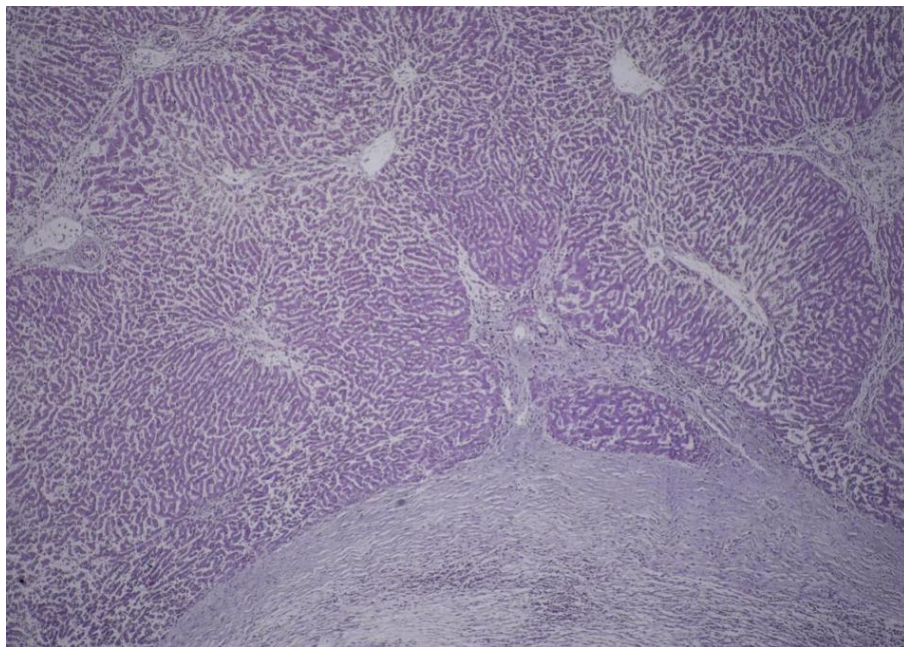


Рисунок 120 – Микрофотография. 14 суток после моделирования травматической полости в толще средней доли печени и введения пластины кровоостанавливающей «Тахокомб». Интеграция регенерата в соединительнотканную строму печени. Умеренно выраженное расширение синусоидных капилляров. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x40

8.2.14. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели краевой раны правой доли печени

Спустя 28 суток после введения пластины «Тахокомб» в области моделирования краевой раны правой доли печени, остатков нерезорбированного материала не обнаружено. Заполняющий раневой дефект соединительнотканый

регенерат построен из плотной волокнистой соединительной ткани. Пучки коллагеновых волокон регенерата интегрированы в соединительнотканную строму печени, что приводит к деформации печеночных балок в пограничных с регенератом печеночных дольках. В таких дольках с измененной геометрией наблюдается локальное расширение синусоидных капилляров.

В составе клеточной популяции преобладали клетки-резиденты. Среди последних большинство составляли фиброциты и в небольшом количестве – зрелые фибробласты и ПЯЛ.

Таким образом, к 28-м суткам после моделирования краевой раны правой доли печени и размещения в ней пластины Тахокомб резорбцию исследуемого материала следует считать завершенной.

8.2.15. Результаты применения образцов пластины кровоостанавливающей «Тахокомб» на модели поверхностной раны левой доли печени

В гистологических препаратах от животных, выведенных на 28-е сутки после моделирования поверхностной раны печени и размещения здесь же пластины Тахокомб, по всей поверхности экспериментального повреждения печени определяется слой плотной волокнистой соединительной ткани толщиной от 470 до 1200 мкм. Остатков нерезорбированного материала не обнаружено. Пучки волокон регенерата разнонаправлены и интегрированы в соединительнотканную строму печени. В прилежащих объемах печеночной паренхимы выраженная гидропическая дистрофия гепатоцитов. Клеточные компоненты регенерата представлен главным образом фиброцитами и в меньшей степени фибробластами от юных до зрелых форм. Следует считать гистотипическую регенерацию в области размещения «Тахокомб» на поверхностной ране печени завершенной. Следует отметить, что степень зрелости регенерата в этой группе животных меньше, по сравнению со всеми остальными группами животных на этом сроке наблюдения (Рисунок 121).

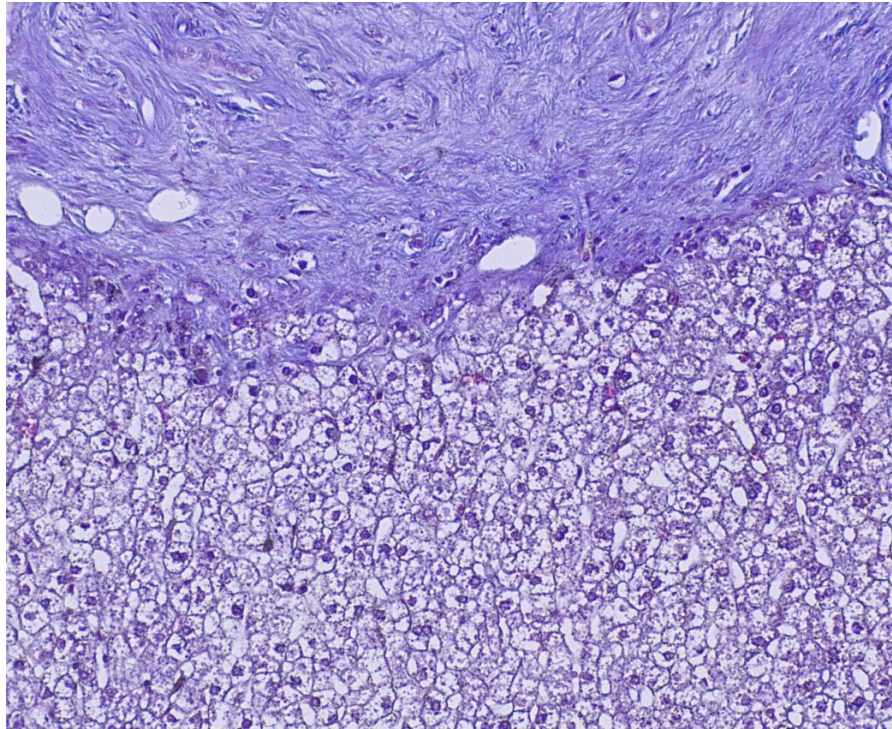


Рисунок 121 – Микрофотография. 28 суток после моделирования поверхностной раны левой доли печени и размещения в ней пластины кровоостанавливающей «Тахокомб». Окраска гематоксилин-эозином. Ув. х200

Наблюдения до 28 суток и анализ гистологической картины реакции тканей печени лабораторных животных на ГПКС 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, что влияет на стадию и скорость 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.

* * *

На экспериментальных моделях ран печени в разных по характеру формируемого дефекта группах изучение применения коллаген содержащих ГПКС не обнаружило статистически значимых отличий показателей крови как при внутригрупповом, так и при межгрупповом сравнении. По данным гистологического исследования после применения опытных образцов к 28-м суткам полностью завершилась резорбция всех изученных образцов. Влияния на структуру печени и окружающую ткань применение ГПКС заключалось в следующем: на поздних сроках сохранились лишь нарушения геометрии печеночных балок, расширение синусоидных капилляров, более или менее выраженная гидропическая дистрофия.

Метод контрольно-динамической лапароскопии, выполненный с целью оценки состояния места моделирования травмы печени и оценки выраженности спайкообразования (балльная система) позволил ранжировать образцы по убыванию выраженности СПБП: Na-КМЦ+коллаген 50%→ГКГ→Тахокомб→ Na-КМЦ+коллаген 25%→Na-КМЦ+коллаген 15%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кровотечение продолжает оставаться одним из жизнеугрожающих осложнений, возникающих вследствие повреждений и патологических процессов [6, 13]. Повреждения паренхиматозных органов, в частности, печени, наряду с повреждением магистральных сосудов, занимали лидирующее место среди причин летальности травмированных больных [16, 18]. Кровотечения продолжают сопровождать и хирургические вмешательства, удлиняя операцию и снижая уровень резистентности организма в послеоперационном периоде, негативно влияя на иммунитет и репаративные процессы [82]. Научно-технический прогресс обеспечивает практическую медицину новыми решениями, в частности, медицинскими изделиями, в том числе местными средствами борьбы с кровотечениями [112]. Это позволяет совершенствовать хирургическую технику, расширять показания к хирургическим вмешательствам, предотвращать периоперационные осложнения геморрагического характера.

Четверть пациентов, поступающих с травмой живота, имели повреждения печени, летальность же в данной группе, в основном вследствие кровопотери, составляет, по данным разных авторов, от 10% до 65%. Как указывали многие авторы, механизмы процесса остановки кровотечения различными изделиями до конца не раскрыты, а кровоостанавливающие средства, обладающие всеми требованиями, предъявляемыми к «идеальному» гемостатику, в настоящее время отсутствовали в арсенале хирурга.

По данным литературы, большинство исследований, нацеленных на остановку обильного, длительно не останавливающегося кровотечения, сконцентрированы на решении задач по улучшению качества и техники наложения гемостатических швов и ГПКС. Именно применение местных кровоостанавливающих средств, обладающих высокой адгезивной способностью,

позволяет обеспечить снижение травматичности за счет бесшовной техники, в том числе при обширных органосохраняющих операциях.

Многие из представленных на рынке кровоостанавливающих средств отечественных и зарубежных производителей на фоне низкой гемостатической активности, ввиду слабой адгезивной способности, также провоцировали развитие спаечного процесса брюшной полости, способствовали пролонгированию воспалительного процесса. Местные гемостатические средства возможно использовать в различных клинических ситуациях, так как существуют такие формы, как губки, пленки, гели на основе коллагена, желатина, окисленной целлюлозы, альбумина, полисахаридов, неорганических веществ, фибрина, иных полимеров, отдельно стоит отметить комбинированные изделия (например, коллаген и целлюлоза). Распространена практика пропитывания средства веществами, усиливающими процесс коагуляции (прокоагулянты, такие как тромбин, фибриноген, фактор VIII, XIII и т.д.), веществами, активирующими сам процесс свертывания крови (аминокапроновая кислота), способствующими образованию фибриновых и смешанных тромбов.

Помимо кровоостанавливающей активности разрабатываемых средств, главным и неотъемлемым требованием к ним является биосовместимость. В связи с этим применение биodeградируемых изделий на основе полимеров целлюлозы в медицине обусловлено их позитивными свойствами, такими как высокая биосовместимость, нетоксичность, химическая инертность, резистентность к микробным агентам, обширная сырьевая база и низкая себестоимость изготовления продукта. Вместе с тем дополнение ГПКС, состоящего из целлюлозы, коллагеном (морского происхождения, например, гигантского кальмара), представляется рациональным, так как этот компонент, обладая биологической активностью, является пусковым фактором, инициирующим агрегацию тромбоцитов и их дегрануляцию с последующим каскадом биохимических реакций с формированием сгустка. Ключевым отличием коллагена морского происхождения является низкая реактогенная активность макроорганизма, в который помещается изделие. Однако в современной литературе отсутствуют сведения о применении подобных изделий.

В связи с этим были поставлены цель улучшить результаты операций на паренхиматозных органах брюшной полости путем разработки новых многокомпонентных полимерных губчатых средств (на основе Na-КМЦ и коллагена морского происхождения).

В первую очередь была доказана актуальность настоящего исследования и заинтересованность профессионального сообщества в использовании ГПКС в практической деятельности. Опираясь на результаты анонимного опроса врачей-хирургов (анкетирование), можно сказать, что практически в равном соотношении респонденты использовали наложение гемостатических швов (30%) и ГПКС (27%), доступное в ЛПУ. При этом из 135 опрошенных 82 респондента использовали в практической деятельности местные гемостатики, а 23 – не использовали их ввиду недоступности таких изделий для клиники. Полученные данные позволили утверждать о необходимости дальнейшего поиска и разработки эффективных и доступных для практикующих специалистов ГПКС.

Оценку физико-механических характеристик шовного материала различной текстуры и изучение динамических изменений тканей при затягивании швов проводили на модели ушивания раны *ex vivo* с тонзиметрическим контролем на фрагментах интактной печени трупов при использовании шовных материалов разной текстуры, но одинаковой толщины. В процессе исследования применялось разработанное нами устройство («Устройство для исследования физико-механических характеристик швов и шовного материала, степени деформации паренхимы органов», патент РФ на изобретение № 184617U1). Результаты исследования позволяют утверждать, что наименее предпочтительным шовным материалом при операциях на печени является мононить. Однако с учетом введенного в данной работе коэффициента прорезывания получены данные об отсутствии значимых различий между показателями монопнити и полифиламентных волокон при достижении усилия эффективного с гемостатических позиций сопоставления краев раны. Этот аспект является дополнительным аргументом, обосновывающим необходимость применения ГПКС, дополняющих эффект наложенных швов или их заменяющих.

Рациональным дополнением, уменьшающим риск прорезывания и, одновременно, способствующим остановке кровотечения, является использование гемостатических материалов.

Наиболее перспективным сырьем отечественных фирм-производителей, предназначенным для изготовления ГПКС, являются Na-КМЦ, ввиду его широкого применения в медицинской промышленности и наличия ряда позитивных свойств (биodeградация, антимикробная и кровоостанавливающая активность), а также минимальная биогенность коллагена морского происхождения (изготавливаемого из глубоководного кальмара). На последующих этапах исследования (в формате рандомизированного контролируемого однофакторного модельного эксперимента) проводилась оценка свойств ГПКС, разработанных на базе НИИ ЭМ КГМУ совместно с кафедрой химии Курского государственного университета, в сравнительном аспекте с уже используемыми в клинической практике местными гемостатиками.

После получения образцов по разработанной методике («Губка кровоостанавливающая комбинированная», патент RU 2836134 C1) проводилась оценка их физико-механических, морфологических и химических свойств. Среди разработанных ГПКС низкие показатели ОДС обнаружены в группе Na-КМЦ+коллаген 50%, это позволяет косвенно судить о высокой пористости образцов. При дальнейшей оценке сорбционной способности в опыте *in vitro* обнаружено, что образцы данной группы имели наибольший показатель среди опытных групп. Достигается такая впитывающая способность высокой пористостью образцов. Но, несмотря на высокие позитивные свойства в группе Na-КМЦ+коллаген 50%, образцы группы Na-КМЦ+коллаген 15% обладали большей адгезивной способностью к париетальной брюшине среди всех групп сравнения и экспериментальных групп. Но тем не менее все группы разработанных ГПКС обладали более высокими значениями по данному критерию оценки, чем образцы, используемые в клинической практике.

При морфологической оценке поверхности ГПКС (в группах Na-КМЦ+коллаген) выявлены также более высокие значения площади пор, чем в

группах контроля и сравнения, что опосредованно позволяет предположить наличие потенциально высокой гемостатической активности у разработанных изделий.

Для проверки данной гипотезы выполнены модифицированные лабораторные тесты по авторской методике («Способ изучения влияния кровоостанавливающих средств на образование сгустка крови», патент RU 2821761 C1), по результатам которых наибольшее значение времени свертывания крови отмечалось во второй экспериментальной группе (Na-КМЦ+коллаген 15%), наименьшее – в третьей экспериментальной группе (Na-КМЦ+коллаген 25%). Учитывая вышесказанное, можно предположить, что гемостатическая активность тестируемых изделий зависит также не только от степени пористости и химического состава, но и от площади контакта ГПКС с кровоточащей поверхностью.

В остром опыте *in vivo* при краевой резекции левой доли печени крысам для остановки кровотечения использовали образцы одинакового размера (1х1 см, с известной массой), при этом наименьшее значение времени кровотечения было отмечено в опытной группе с применением опытных образцов ГПКС (Na-КМЦ+коллаген 50%), что в 2,3 раза меньше, чем в группе с использованием пластины коллагеновой гемостатической «Тахокомб». Значимые различия обнаружены также практически во всех группах сравнения (не менее чем в 2 раза). Помимо этого, при сравнении значений группы Na-КМЦ+коллаген 15% и ГПКС, внедренного в клиническую практику (средство кровоостанавливающее Surgicel Fibrillar и «Тахокомб»), отмечены значимые отличия. Описанные данные (сравнение значений показателя «Времени кровотечения») подтверждены результатами оценки показателя «Объем кровопотери» в группах исследования. Минимальный объем кровопотери зарегистрирован в группе Na-КМЦ+коллаген 50%, а наибольший – в экспериментальной группе с использованием в качестве гемостатика образца из Na-КМЦ (без добавления коллагена). Полученные данные подтверждали первоначальную гипотезу о высокой кровоостанавливающей активности ГПКС с бóльшим содержанием коллагена.

Помимо высоких показателей гемостатической активности (эффективности), важным критерием является биodeградация и реакция окружающих тканей на размещение образцов, что оценивалось в следующей серии исследования. Так, на данном этапе тестирования ГПКС производилась оценка деградации ГПКС и реакции тканей макроорганизма на их размещение в подкожно-жировой клетчатке лабораторным животным. При этом стоит отметить увеличение толщины капсулы в зависимости от срока эксперимента (на 28-е сутки во всех группах отмечается наибольшее значение ввиду постепенного созревания волокнистой ткани в перипротезной капсуле и постепенной деградации ГПКС за счет макрофагов) и количества коллагена в составе ГПКС (превалировали в группе ГКГ, а среди разработанных изделий – Na-КМЦ+ коллаген 50% (Рисунок 122).

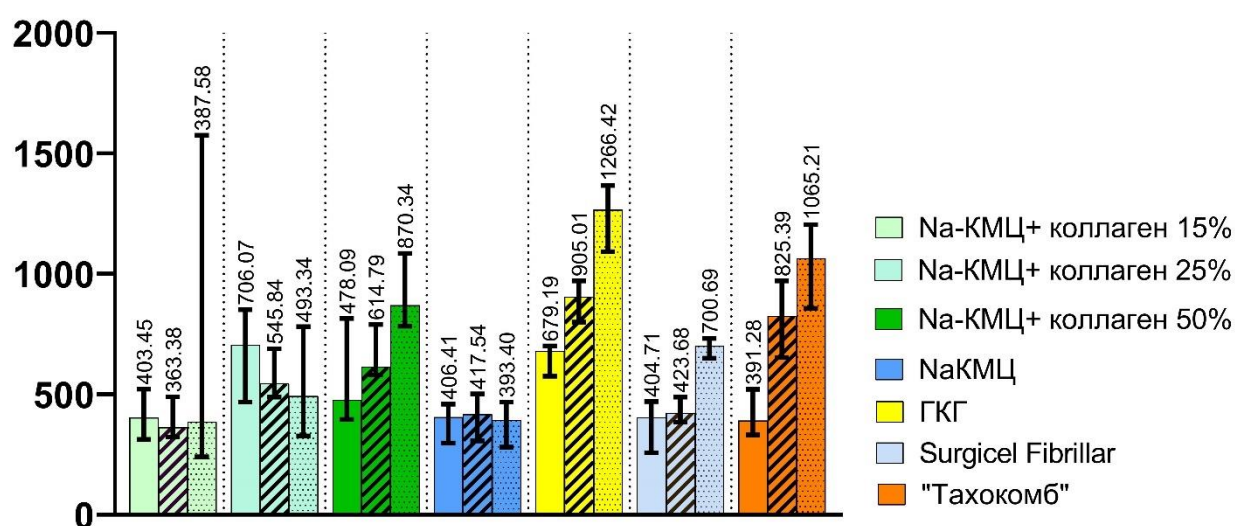


Рисунок 122 – Толщина капсулы вокруг исследуемых образцов после подкожного размещения на 7-е, 14-е, 28-е сутки, мкм

При этом важным критерием сравнения является клеточный состав капсулы и выраженность соединительнотканного компонента (волокнистой ткани). Так, в группе Na-КМЦ+коллаген 15% на всех сроках 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 123).

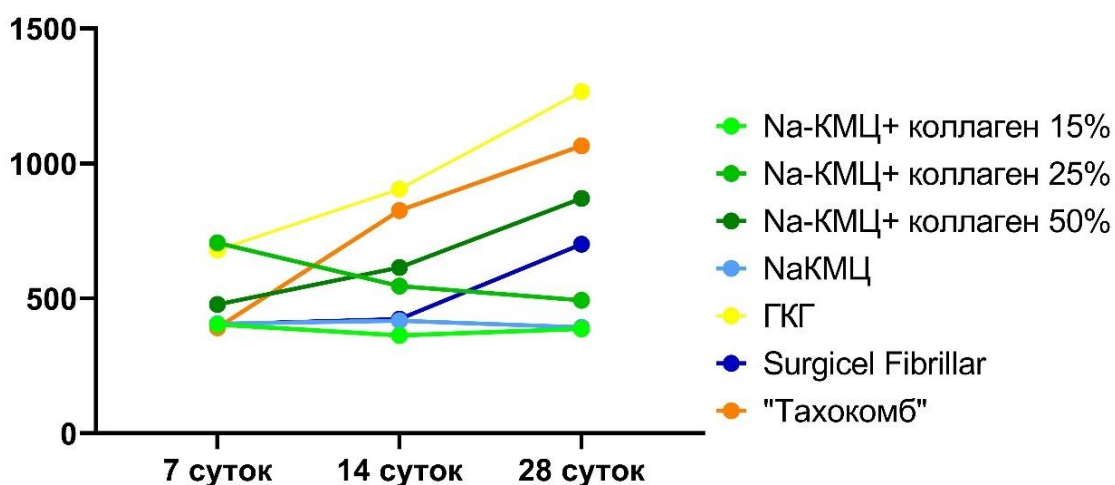


Рисунок 123 – Динамика изменения толщины волокнистого слоя капсулы вокруг исследуемых образцов после подкожного размещения на 7-е, 14-е, 28-е сутки

Интегральная оценка клеточного состава капсулы проводилась путем расчета КИ (отношение количества клеток-резидентов к общему количеству клеток-нерезидентов). При этом во всех группах исследования обнаружено увеличение уровня КИ согласно срокам эксперимента (от 7 до 28 суток, соответственно), что говорит о преобладании соединительнотканного компонента капсулы над клеточно-воспалительным. Наибольшие значения КИ отмечены в группе ГКГ на 28-е сутки, а значения разработанных изделий (в частности, Na-КМЦ + коллаген 50%) незначительно уступали данному образцу и достигали высоких значений (Рисунок 124).

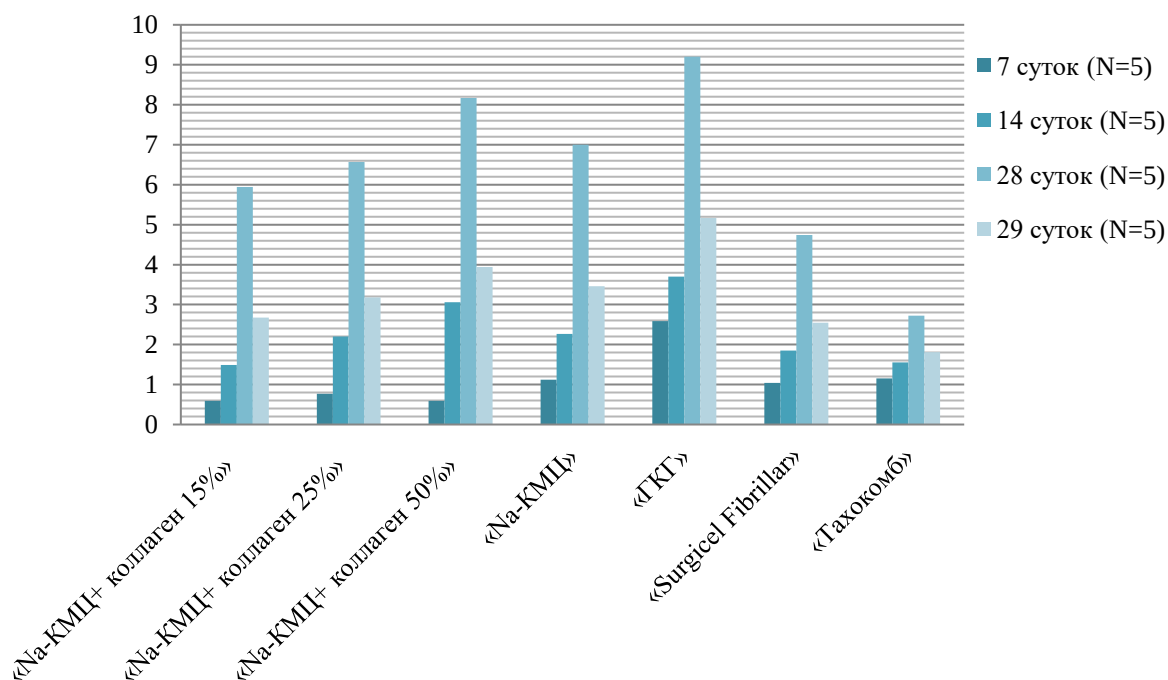


Рисунок 124 – Гистограмма значений клеточного индекса в исследуемых группах животных на различных сроках наблюдения

Гистологические изменения в тканях вокруг образцов подтверждались биохимическим анализом уровня гидроксипролина в местах размещения ГПКС. В опытных сериях, как и ранее, на всех сроках отмечается следующая тенденция: повышение уровня гидроксипролина пропорционально увеличению концентрации коллагена в образцах опытных групп: 1→2→3 (Рисунок 125).

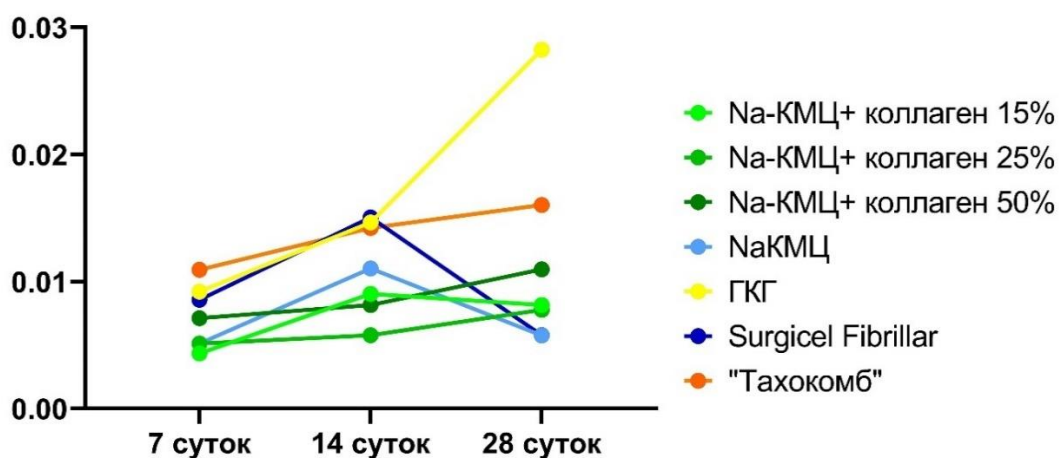


Рисунок 125 – Динамика концентрации гидроксипролина в тканях перипротезной капсулы после подкожного размещения исследуемых образцов на 7-е, 14-е, 28-е сутки

На заключительном этапе всесторонней оценки ГПКС выполнялось моделирование ран печени лабораторным животным (кроликам) из лапароскопического доступа, в том числе разработанным автором работы способом («Способ лапароскопического моделирования рваной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов», Евразийский патент на изобретение 042177 В1). Всем животным проводили измерение показателей общего клинического и биохимического анализов крови перед моделированием травм печени и на 28-е сутки после операции. При этом статистически значимых отличий показателей крови не выявлено как при внутригрупповом, так и при межгрупповом сравнении, что говорит об отсутствии вероятных клинически значимых проявлений в послеоперационном периоде в ответ на хирургическую интервенцию: геморрагического и воспалительного синдромов и нарушений функции печени.

После применения опытных образцов для остановки кровотечения из паренхимы печени в хроническом опыте с использованием трех методик моделирования травмы, в гистологических срезах к 28-м суткам полностью завершилась резорбция всех изученных образцов. Существенного влияния на морфологическую организацию структуры паренхимы органа, окружающей подвергшуюся травме зону, использование кровоостанавливающих средств не оказало: сохранились лишь нарушения геометрии печеночных балок, расширение синусоидных капилляров, более или менее выраженная гидропическая дистрофия.

Важным этапом тестирования ГПКС является оценка влияния на развитие спаечного процесса в брюшной полости, который может приводить к такому грозному осложнению, как спаечная кишечная непроходимость. Ввиду наличия коллагенового компонента в составе ГПКС такой риск значительно увеличивается. На данном этапе эксперимента были использованы только коллагенсодержащие ГПКС (опытные образцы, ГКГ и «Тахокомб»).

Оценка спаечного процесса в брюшной полости – трудоемкий процесс, так как для этого требуется учитывать множество факторов, которые возможно оценить только визуально. С этой целью использован метод контрольно-

динамической лапароскопии на основе балльной системы. Для наглядной оценки выраженности спаечного процесса были использованы такие параметры, как распространенность СПБП, морфология спаечных сращений, деформация органов брюшной полости спаечными сращениями. Указанные параметры ранжировали, а затем полученные ранги суммировали. Согласно проведенному анализу, наиболее выражен спаечный процесс в группах с использованием опытных образцов Na-КМЦ+коллаген 50% и ГКГ. В следующем ряду группы исследуемых образцов размещены по убыванию выраженности СПБП: Na-КМЦ+коллаген 50%→ГКГ→Тахокомб→ Na-КМЦ+коллаген 25%→Na-КМЦ+коллаген 15% (Рисунок 126).

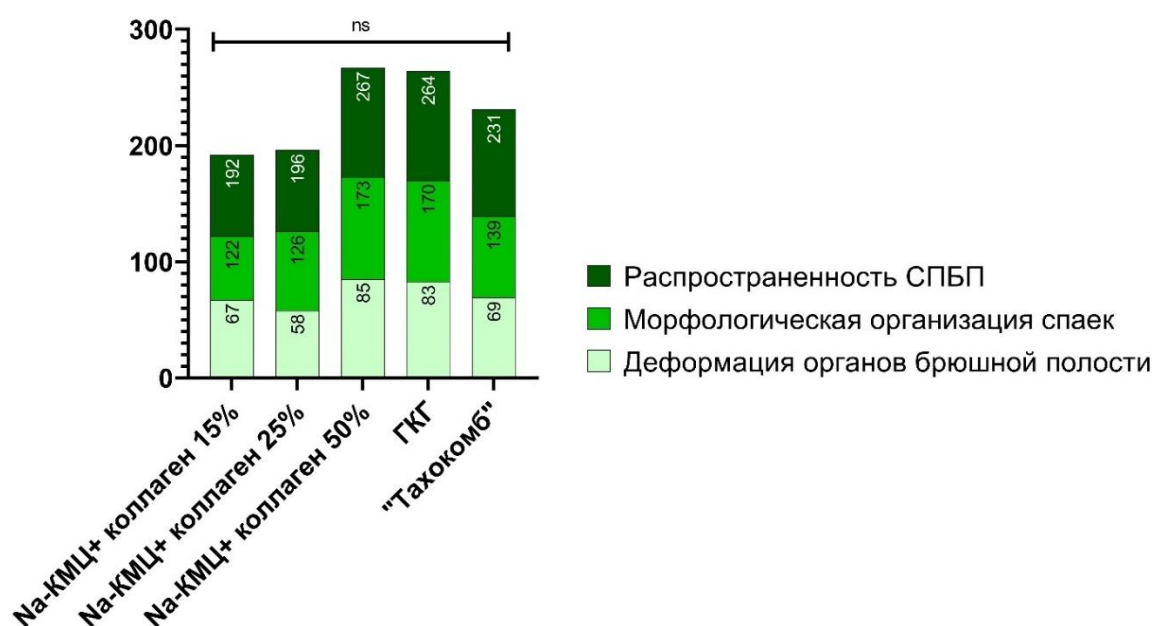


Рисунок 126 – Ранжирование исследуемых образцов по выраженности СПБП

Был проведен и системный математический анализ результатов, поиск возможных взаимосвязей между структурными особенностями ГПКС, их свойствами и результирующими проявлениями в процессе и после применения в виде показателей кровоостанавливающей активности и локальных изменений в зоне вмешательства.

Анализ полученных данных показал, что ожидаемо взаимосвязанные параметры, описывающие физико-механические характеристики изученных

материалов, коррелировали друг с другом с различной степенью сил связи в зависимости от соотношения в ГПКС веществ (Na-КМЦ и коллагена), то есть его химического состава. Так, толщина волокон и площадь пор прямо и обратно коррелировали с эластичностью со слабой силой связи. Очевидно, что обратная корреляция площади пор с эластичностью вызвана тем, что поры материала оказывались заняты Na-КМЦ, что отражается на итоговых показателях эластичности и, соответственно, сорбционных свойствах.

Роль Na-КМЦ в изменении сорбционных свойств подтверждает наличие менее сильной прямой корреляционной связи сорбционной активности материала с толщиной волокон, по сравнению с размерностью пор, и наличие более сильной обратной связи сорбционной активности с эластичностью, которая, как было отмечено выше, зависит и от размерности пор, и от толщины волокон.

Существенно больший набор разнонаправленных корреляционных связей обнаруживается при анализе биологических характеристик изученных материалов. Уровень гидроксипролина и толщина волокнистого слоя капсулы коррелировали обратно с показателями эластичности с сильным и слабым уровнями связи, соответственно. Ожидаемо, что утолщение капсулы отрицательно сказывается на эластичности ГПКС, и, видимо, такая зависимость линейна. Менее значительная отрицательная связь с уровнем гидроксипролина может быть объяснена тем, что на различных сроках выведения животных из эксперимента ГПКС деградировали с различной скоростью, что проявляется большим разбросом значений концентрации гидроксипролина и, как следствие, меньшей силой обратной корреляционной связи. Отрицательные корреляционные связи слабой силы между толщиной капсулы, и размерностью пор, и толщиной волокон ГПКС также могут быть следствием как различной скорости биodeградации тестируемых материалов, так и различными темпами ремоделирования волокнистого слоя капсулы ГПКС. Последнее подтверждается практически отсутствием корреляций уровня гидроксипролина и толщины волокон ГПКС (значение корреляционной связи – «-0,09», а также слабой связью толщины волокнистого слоя капсулы и уровня гидроксипролина (сила связи – 0,29) (Рисунок 127).

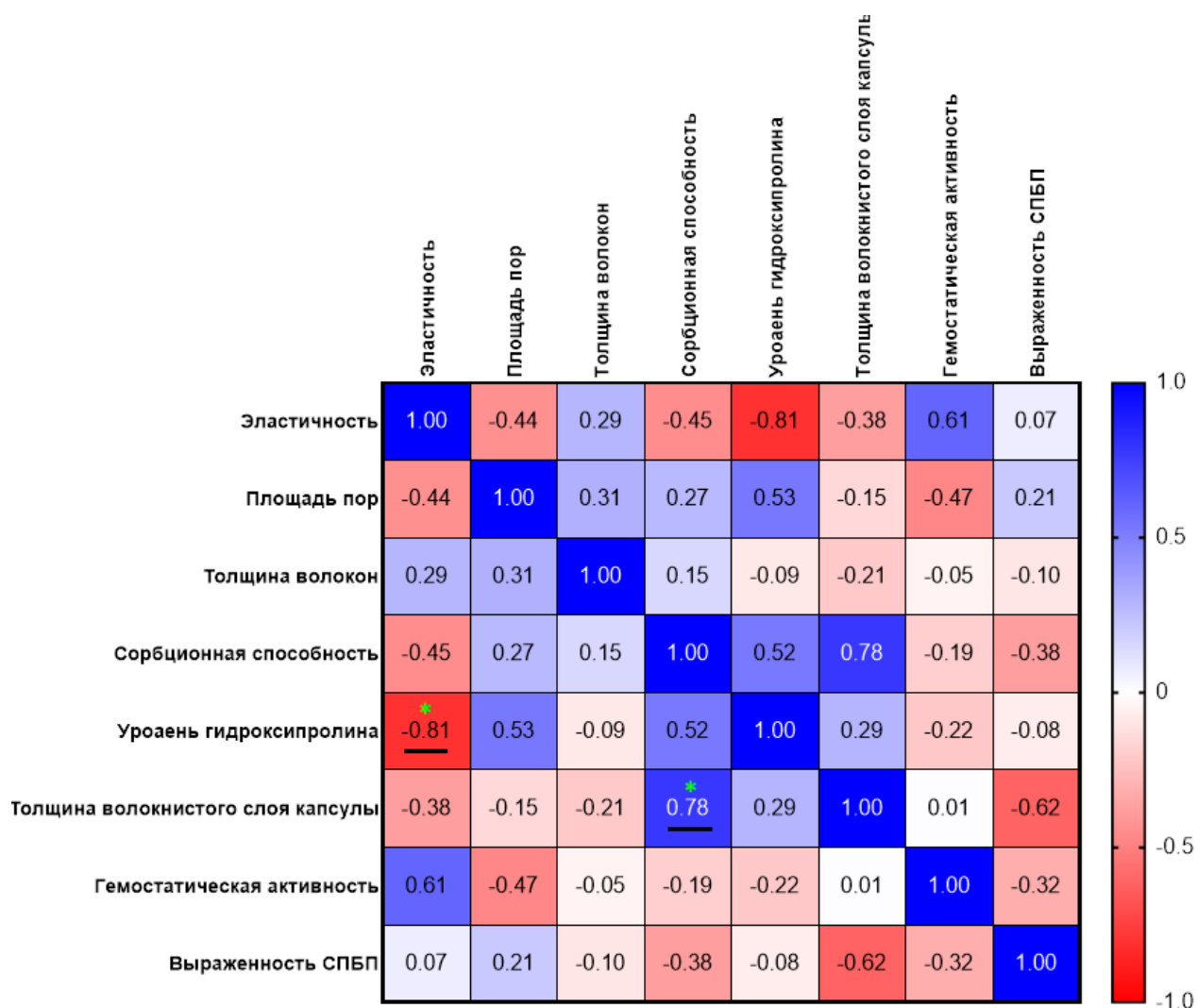


Рисунок 127 – Матрица корреляций физических и биологических свойств исследуемых материалов

Значение коллагена при местной остановке кровотечения можно проследить, анализируя корреляционные связи показателя гемостатической активности с остальными параметрами. Из всех сравниваемых показателей проведенный анализ корреляции параметров с целью определения содружественности изменений результирующих характеристик показал зависимость физико-механических и морфологических характеристик.

Ранжирование образцов материалов в опытных, контрольных и группах сравнения (от наименее к наиболее позитивному эффекту) позволило посредством суммирования их позиций выделить материал, наиболее выгодный для использования с целью остановки кровотечения. Таким оказался опытный образец

Na-КМЦ+коллаген 25%, набравший максимальную сумму рангов – 83 (Таблица 36).

Таблица 36 – Итоговое ранжирование образцов ГПКС

Критерии оценки	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
Определение степени 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 перипротезной капсулы	6	7	3	4	1	5	2
Время свертывания крови	5	7	6	4	2	3	1

Продолжение Таблицы 36

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

Учитывая полученные данные, можно говорить о том, что увеличение концентрации коллагена в составе ГПКС повышает его эффективность, уменьшая время кровотечения и объем кровопотери, соответственно. Однако высокое содержание коллагена приводит к усилению выраженности реакции тканей, повышению жесткости и толщины филаментов, снижению пористости. Механизм кровоостанавливающего действия коллагена изучен достаточно, и считается, что коллаген запускает процессы коагуляции и образования сгустка крови. Согласно нашим результатам, данное утверждение справедливо и при использовании изделий на основе морского коллагена глубоководного кальмара. Но использование коллагена морского происхождения обладает рядом преимуществ, в частности низкой иммуногенной активностью (снижение риска анафилактических реакций, что возможно при использовании материалов на основе изделий из коллагена животного происхождения) при высокой гемостатической эффективности. Кровоостанавливающее действие коллагена потенцирует порозная структура Na-КМЦ, которая адсорбирует жидкий компонент крови, увеличивая концентрацию форменных элементов в зоне контакта травмированной поверхности и ГПКС (рисунок 126).

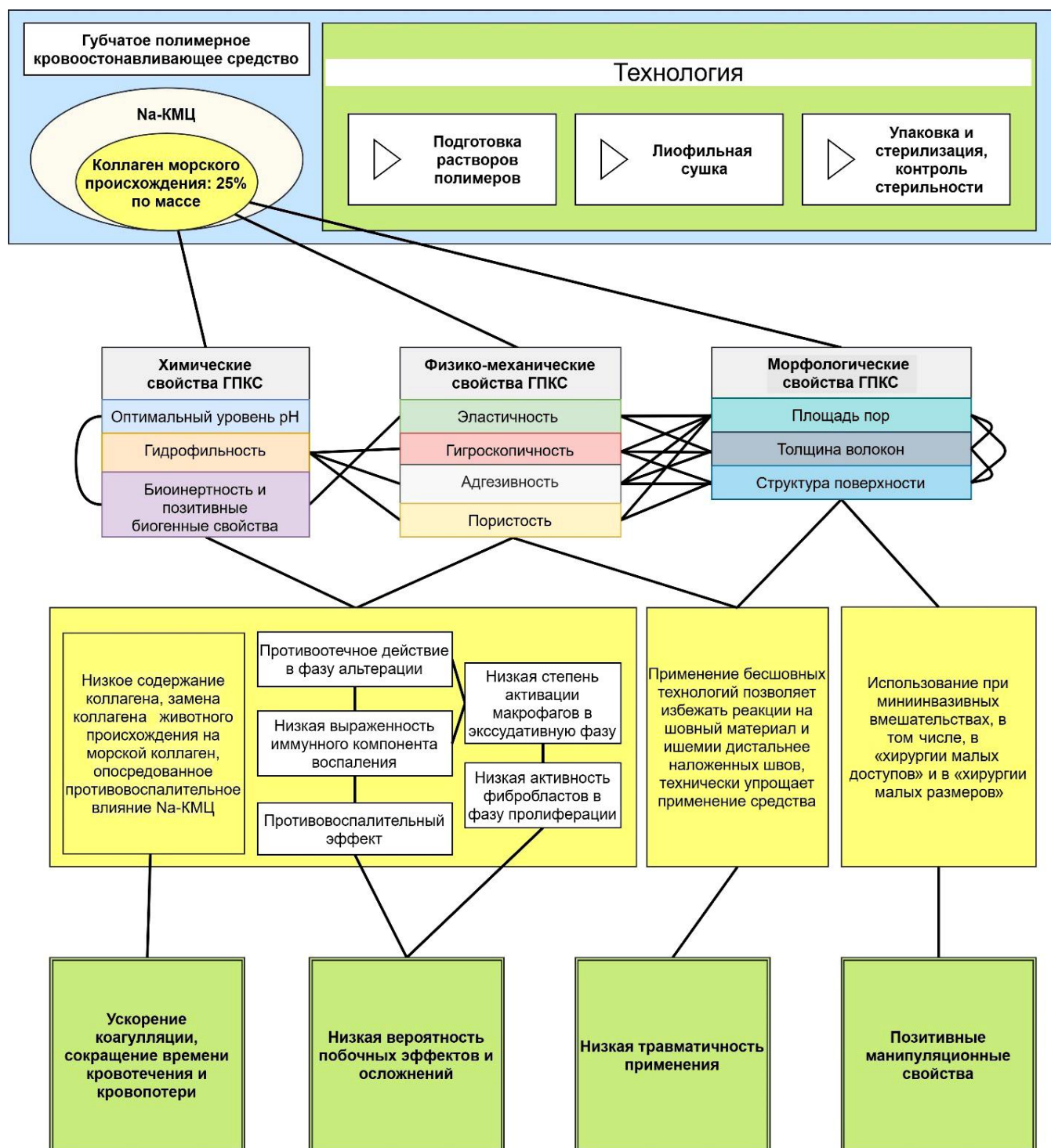


Рисунок 128 – Концепция применения ГПКС на основе Na-KMЦ и коллагена морского происхождения

Такие изделия могут быть выполнены на производственных базах отечественных производителей изделий медицинского происхождения без использования дорогостоящего импортного сырья. Последующие исследования данных изделий (реакция тканей макроорганизма, манипуляционные свойства

ГПКС интраоперационно и в эксперименте *in vitro*) позволят оценить возможность и перспективность их внедрения в клиническую практику хирургических стационаров.

Полученные в ходе проведенной работы данные согласуются с данными, опубликованными в открытой научной печати. Внесение в структуру кровоостанавливающего средства коллагена позволяет добиться, помимо гемоконцентрирующего эффекта пористой гидрофильной основы, эффекта биогенного, запускающего каскад реакций, ведущих к коагуляции. Вторым компонентом решения, представленного в настоящей диссертации, является замена рутинно используемого коллагена животного происхождения на коллаген морского происхождения, который, по данным литературы, обладает более низкими антигенными свойствами и вызывает менее интенсивную иммунную реакцию и воспаление, в том числе с проявлением в форме развития волокнистой соединительной ткани на финальном этапе процесса. Снижение количества коллагена в структуре кровоостанавливающего средства до необходимого для достижения биогенного эффекта, ускоряющего коагуляцию, в частности, приводит к повышению биосовместимости конечного продукта.

Данная работа представляет собой продолжение развития исследований, связанных с использованием ГПКС на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы, которые доказали высокую кровоостанавливающую эффективность и биологическую инертность. Как и другими исследователями, нами обнаружены положительные эффекты, стимулирующие процесс формирования кровяного сгустка и, в совокупности, увеличения кровоостанавливающей эффективности при использовании для гемостатических целей местных кровоостанавливающих средств, содержащих коллаген. Данные, полученные в результате проведенных исследований, сопоставимы с данными, опубликованными другими учеными в статьях и монографиях.

ВЫВОДЫ

1. Консолидированное мнение экспертов заключается в следующем: губчатое полимерное кровоостанавливающее средство должно надежно останавливать кровотечение, обладать антибактериальной активностью, апиrogenностью, 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 1-1,1 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 деградации 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: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (75%) и коллаген морского происхождения (25%), предлагается для промышленного производства и дальнейшего клинического использования.

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. Алгоритмы 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 катетеризации наружной яремной вены для забора венозной крови у кроликов в хроническом эксперименте», «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 сокращений

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

ККС – коллагенсодержащее кровоостанавливающее средство

КРС – крупный рогатый скот

КТ – компьютерная томография

МФК – микрофибриллярный коллаген

ОАК – общий анализ крови

ОДС – остаточная деформация сжатия

ПВСТ – плотная волокнистая соединительная ткань

ПГС – показатель гемодинамического статуса пострадавшего

ПИ – пролиферативный индекс

ПИГ – показатель интенсивности гипокоагуляции

ПОК – показатель объема кровопотери

ПРДУ – передвижная рентгенографическая установка

ПСЗП – показатель сопутствующих заболеваний печени

ПСПП – показатель степени повреждения печени

ПХТ – показатель характера травмы

ПЯЛ – полиморфноядерные лейкоциты

РВСТ – рыхлая волокнистая соединительная ткань

СПБП – спаечный процесс брюшной полости

СЭМ – сканирующий электронный микроскоп

ТЭГ – тромбоэластография

УЗИ – ультразвуковое исследование/сканирование

ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение

AAST – American Association for the Surgery of Trauma

AIS – Abbreviated Injury Scale

FAST-протокол – focused abdominal sonography for trauma

GLP – good laboratory practice

Na-КМЦ – натрий-карбоксиметилцеллюлоза

WSES – World Society of Emergency Surgery

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абзаева, К. А. Современные локальные гемостатики и уникальные представители их нового поколения / К. А. Абзаева, Л. Е. Зеленков // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 6. – С. 1233–1239.
2. Александров В. В. и др. Закрытая травма печени. Систематический обзор // Журнал им. Н. В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2025. – Т. 14. – №. 1. – С. 141-154.
3. Анализ результатов хирургического лечения пациентов с травматическими повреждениями печени / Ю. А. Пархисенко, А. К. Воронцов, К. Е. Воронцов, А. А. Безалтынних // Перспективы науки и образования. – 2018. – № 1(31). – С. 245–250.
4. Барсукова, Ю. Н. Изучение высвобождения действующих веществ из гемостатического средства на гидрофильной основе / Ю. Н. Барсукова, О. А. Мельникова. – DOI 10.31549/2542-1174-2020-1-100-107 // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2020. – № 1. – С. 100–107.
5. Белобородов, В. А. Травма печени мирного времени / В. А. Белобородов, А. А. Белобородов, Е. А. Чихаев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 95, № 4. – С. 45–48.
6. Биodeградируемые импланты: становление и развитие, преимущества и недостатки (обзор литературы) / Л. А. Якимов, Л. Ю. Слиняков, Д. С. Бобров [и др.] // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2017. – № 1. – С. 44–49.
7. Виденин, В. Н. Пути улучшения результатов оперативного лечения животных при патологиях в брюшной полости / В. Н. Виденин, Б. С. Семенов, Н. Б. Баженова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 1 (21). – С. 80–83.
8. Воскресенский, О. В. Видеоторакоскопия в лечении послеоперационных кровотечений и их осложнений при ранениях груди / О. В. Воскресенский, М. М. Абакумов, Ш. Н. Даниелян // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. – № 8. – С. 13–18.

9. Гаин, Ю. М. Современные методы местного гемостаза при повреждениях паренхиматозных органов живота / Ю. М. Гаин, О. С. Александрова, В. Н. Гапанович // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 4. – С. 160–171.
10. Гемодинамическая проба на состоятельность хирургического гемостаза / Г. Г. Бестаев, В. П. Земляной, А. Ф. Романчишен, К. М. Лебединский // Эфферентная терапия. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 52–59.
11. Гидравлическая проба на состоятельность хирургического гемостаза: опыт систематического протокола / Г. Г. Бестаев, К. М. Лебединский, В. П. Земляной, А. Ф. Романчишен // Вестник интенсивной терапии. – 2010. – № S5. – С. 63–64.
12. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. ОФС.1.4.1.0024.18 Губки лекарственные // ЗдравМедИнформ : [сайт]. – URL: <https://zdravmedinform.ru/farmakopeia/ofs.1.4.1.0024.18.html> (дата обращения: 30.04.2024).
13. Евтихов, А. В. Клинические наблюдения тяжелых травматических повреждений печени / А. В. Евтихов, Е. Д. Любимый, В. Л. Ким. – DOI 10.17116/hirurgia202007189 // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2020. – № 7. – С. 89–92.
14. Жуковский, В. А. Полимерные имплантаты для реконструктивной хирургии / В. А. Жуковский // Innova. – 2016. – № 2 (3). – С. 51–59.
15. Затолокин, В. Д. О гемостазе при резекции левой доли печени / В. Д. Затолокин, А. А. Перьков, Е. И. Затолокина // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2009. – Т. 2, № 4. – С. 333–334.
16. Земляной, А. Б. Средство местного гемостаза – текучая активная гемостатическая матрица / А. Б. Земляной. – DOI 10.17116/hirurgia2019051104 // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2019. – № 5. – С. 104–115.
17. Интраоперационные способы гемостаза при операциях на печени / Г. Ц. Дамбаев, А. Н. Байков, Е. В. Семичев, [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, №4. – С. 89–92.

18. Интраоперационная тактика местного хирургического гемостаза при травмах и плановых операциях на паренхиматозных органах брюшной полости / Д. А. Северинов, Г. А. Бондарев, В. А. Липатов, А. Р. Саакян // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2020. – Т. 13, № 3(48). – С. 268–278.
19. Интраоперационные способы стимуляции репаративной регенерации печени в эксперименте / А. Ю. Лаптиева, А. А. Андреев, А. А. Глухов [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2023. – Т. 16, № 4(61). – С. 294–302.
20. Интраоперационный гемостаз при лапароскопических операциях на органах мочеполовой системы у детей / С. П. Яцык, И. В. Поддубный, Ф. О. Туров [и др.] // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2017. – № 1. – С. 66–78.
21. Исламов, Р. А. Методология эксперимента с использованием лабораторных животных / Р. А. Исламов // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 522–525.
22. Использование гемостатической марли Сургитамп и гранулированного сорбента Молселект G-50 и в лечении экспериментальных кровоточащих ран печени / А. К. Воронцов, Ю. А. Пархисенко, Е. Ф. Чередников [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2023. – Т. 16, № 1(58). – С. 52–59.
23. Использование местных гемостатических средств в сердечно-сосудистой хирургии / Р. Н. Комаров, П. А. Каравайкин, А. А. Кузнецов [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2019. – Т. 25, № 1. – С. 131–142.
24. Исследование деформации губчатых аппликационных гемостатических материалов / В. А. Липатов, Д. А. Северинов, М. Д. З. Наимзда, Е. Л. Пучкова. – DOI 10.17709/2409-2231-2020-7-3-2 // Исследования и практика в медицине. – 2020. – Т. 7, № 3. – С. 21–32.
25. Исследование реакции тканей на применение местных кровоостанавливающих средств в форме порошка *in vivo* / В. А. Липатов, К. С. Циленко, А. А. Денисов [и др.]. – DOI 10.17513/spno.32779 // Современные проблемы науки и образования. – 2023. – № 4. – С. 98.

26. Исследование свойств новых гемостатических губок на основе коллагена /А. И. Бежин, Д. С. Солдатова, Л. П. Истратов [и др.]. – DOI 10.17116/operhirurg2018204111 // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2018. – Т. 2, № 4. – С. 11–17.
27. Истратов, Л. П. Местные гемостатические средства на основе коллагена / Л. П. Истратов, Р. К. Абоянц, Г. Г. Белозерская // Фармация. – 2007. – № 7. – С. 29–32.
28. К вопросу изучения эффективности кровоостанавливающих средств местного действия в эксперименте *in vivo* / В. А. Липатов, К. С. Циленко, А. А. Денисов, П. Д. Кондакова. – DOI 10.35401/2541-9897-2023-26-2-34-39 // Инновационная медицина Кубани. – 2023. – Т. 8, № 2. – С. 34–39.
29. Калмыков К.Н., Карандашев А.А., Колкутин В.В., Сигалов Ф.А. Судебно-медицинские аспекты повреждений печени тупыми предметами. М: Юрлитинформ 2002. – 96 с.
30. Консервативное лечение травмы селезенки с учетом возможностей ангиоэмболизации / А. А. Панкратов, И. Е. Хатьков, Р. Е. Израилов [и др.] // Анналы хирургии. – 2016. – Т. 21, № 3. – С. 174–179.
31. Контроль локального гемостаза с помощью препаратов окисленной целлюлозы / А. М. Чернявский, И. А. Григорьев, С. В. Морозов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2014. – № 8. – С. 71–75.
32. Кудло, В. В. Изменения показателей биохимического анализа крови при закрытии раны печени сальником, Тахокомбом и Фторопластом-4 в эксперименте / В. В. Кудло, Ю. М. Киселевский // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2016. – № 2 (54). – С. 50–54.
33. Кудло, В. В. Морфологические особенности раневой поверхности печени после ее закрытия различными материалами в эксперименте / В. В. Кудло, Н. И. Прокопчик, И. Г. Жук // Проблемы здоровья и экологии. – 2016. – № 4 (50). – С. 69–74.
34. Легонькова, О. А. Методы оценки эксплуатационных свойств полимерных перевязочных средств / О. А. Легонькова, В. Г. Васильев, Л. Ю.

Асанова // Все материалы. Энциклопедический справочник. – 2015. – № 8. – С. 10–14.

35. Легонькова, О. А. Сорбционные и физико-механические свойства биоматериалов, используемых в качестве перевязочных средств / О. А. Легонькова, В. Г. Васильев, Л. Ю. Асанова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – № 10. – С. 7–13.

36. Лечебные возможности лапароскопии при закрытой травме печени / И. Е. Хатков, А. А. Панкратов, Р. Е. Израилов, П. С. Тютюнник // Эндоскопическая хирургия. – 2014. – Т. 20, № 6. – С. 14–17.

37. Липатов, В. А. Анализ современных гемостатических средств местного применения при травмах органов и тканей. обзор литературы / В. А. Липатов, К.С. Циленко, В.В. Сытков // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2021. – № 4. – С. 38-45.

38. Липатов, В. А. Опыт исследования различных свойств местных кровоостанавливающих средств / В. А. Липатов, Д. А. Северинов, Е. Л. Пучкова // Innova. – 2021. – № 1(22). – С. 20–24.

39. Липатов, В. А. Оценка влияния гемостатических материалов на концентрацию кальция крови / В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов. – DOI 10.17709/2410-1893-2021-8-2-4 // Исследования и практика в медицине. – 2021. – Т. 8, № 2. – С. 43–50.

40. Литвин, А. А. Местный гемостаз в хирургии повреждений печени и селезенки / А.А. Литвин, Г. Н. Цыбуляк // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2000. – № 4. – С. 74–76.

41. Локальное применение рекомбинантного активированного фактора свертывания крови VII для остановки массивного операционного кровотечения / А.Ю. Лубнин, Д.Ю. Усачев, А.А. Курбасов [и др.]. – DOI 10.17116/neiro20218503178 // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. – 2021. – Т. 85, № 3. – С. 78–83.

42. Локальные гемостатические средства в хирургической практике / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, С. Б. Базаев, А. А. Крылов. – DOI 10.23934/2223-9022-2021-

10-2-337-346 // Журнал им. Н. В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 337–346.

43. Место видеолапароскопии в ургентной хирургии при травме органов брюшной полости / С. Н. Стяжкина, Н. А. Пелина, Л. И. Хабибулина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 3. – Ст. 63. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26514>.

44. Методологические аспекты применения лапароскопической ультразвуковой диагностики в комплексном алгоритме лечения заболеваний печени, желчных протоков, желчного пузыря, поджелудочной железы / А. В. Борсуков, А. А. Безалтынных, Ю. В. Иванов, А. В. Мамошин // Медицинский алфавит. – 2012. – Т. 4, № 21. – С. 20–26.

45. Модификация целлюлозы – перспективное направление в создании новых материалов / Н. И. Ткачева, С. В. Морозов, И. А. Григорьев [и др.]. – DOI 10.7868/S0507547513070179 // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. – 2013. – Т. 55, № 8. – С. 1086–1107.

46. Морфологическая оценка репаративной регенерации экспериментальных кровотокающих ран печени с применением метода хирургического гемостаза / Ю. А. Пархисенко, А. К. Воронцов, Е. Ф. Чередников [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2023. – Т. 30, № 3. – С. 64–67.

47. Морфологические и физико-механические свойства полимерных пленчатых имплантатов в опытах *in vitro* / В. А. Липатов, М. А. Инархов, Д. М. Ярмamedов, К. В. Лысанская // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – № 1. – С. 129–133.

48. Морфологические особенности рельефа поверхности местных основных разрывов печени при тупой травме / И. А. Дубровина, С. В. Леонов, И. Н. Лютаревич [и др.]. – DOI 10.17116/sudmed201861128-34 // Судебно-медицинская экспертиза. – 2018. – Т. 61, № 1. – С. 28–34.

49. О возможности повторного эндоскопического гемостаза при рецидиве язвенного гастродуоденального кровотечения / А. Е. Климов, Н. В. Лебедев, М. Ю. Персов, В. А. Петухов // Доктор.Ру. – 2018. – № 3(147). – С. 23–26.

50. Общая характеристика морфометрических и морфоскопических признаков разрывов печени различной локализации / И. А. Дубровина, А. Н. Герасимов, А. И. Дубровин [и др.]. – DOI 10.17116/sudmed20196203121 // Судебно-медицинская экспертиза. – 2019. – Т. 62, № 3. – С. 21–27.

51. Одишелашвили, Г. Д. Массивное кровотечение из раны печени у пострадавшего с сочетанной травмой / Г. Д. Одишелашвили, Д. В. Пахнов, Н. Г. Одишелашвили // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2021. – Т. 26, № 4. – С. 41–43.

52. Оптимизация механического гемостаза при эндоназальных хирургических вмешательствах / А. И. Крюков, Н. Л. Кунельская, Г. Ю. Царапкин [и др.] // Вестник МЕДСИ. – 2011. – № 11. – С. 37–41.

53. Особенности гемостаза при центральных и билобарных повреждениях печени / А. С. Ермолов, М. М. Абакумов, Е. С. Владимирова [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 162с–163.

54. Особенности применения гемостатических материалов местного действия в хирургии / О. Э. Луцевич, А. А. Гринь, А. А. Бичев, В. В. Шепелев // Московский хирургический журнал. – 2016. – № 3. – С. 12–20.

55. Особенности регенерации клеток печени после травмы в экспериментальном исследовании / А. К. Воронцов, В. П. Трошин, Ю. А. Пархисенко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 4. – С. 90.

56. Остановка паренхиматозного кровотечения из печени с помощью гемостатического средства на основе неорганических солей / И. С. Жаворонок, Г. Г. Кондратенко, В. Н. Гапанович [и др.] // Новости хирургии. – 2016. – Т. 24, № 4. – С. 361–367.

57. Оценка динамики показателей кровопотери при использовании новых образцов местных кровоостанавливающих средств после травмы печени в эксперименте *in vivo* / В. П. Гаврилюк, В. А. Липатов, К. А. Михайлов, Д. А. Северинов // Политравма. – 2022. – № 1. – С. 84–89.

58. Оценка эффективности гемостатических материалов в остром эксперименте *in vivo* / В. А. Липатов, В. П. Гаврилюк, Д. А. Северинов, А. Ю. Григорьян. – 10.16931/10.16931/1995-5464.2021-2-137-143 // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2021. – Т. 26, № 2. – С. 137–143.

59. Оценка эффективности гемостатического действия тромбина в экспериментах *in vivo* и *in vitro* / В. А. Кабак, Г. Г. Белозерская, А. П. Момот [и др.]. – DOI 10.31684/25418475-2023-3-36 // *Бюллетень медицинской науки*. – 2023. – № 3 (31). – С. 36–45.

60. Оценка эффективности многоэтапной хирургической тактики при тяжелом повреждении печени / Х. А. Умедов, Н. Б. Хайдаров, Е. Э. Хурсанов, Х. Р. Шомуродов. – DOI 10.5281/zenodo.7592934 // *Research Focus*. – 2023. – Т. 2, № 1. – С. 312–318.

61. Оценка эффективности применения гелевых сорбентов в крови при травматических повреждениях печени / А. К. Воронцов, В. П. Трошин, Ю. А. Пархисенко [и др.] // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. – 2020. – № 1(53). – С. 38–47.

62. Оценка эффективности применения двухкомпонентных губчатых кровоостанавливающих средств в остром опыте *in vivo* / В. А. Липатов, А. А. Денисов, С. Э. Петросян [и др.]. – DOI DOI 10.21626/vestnik/2022-4/01 // *Человек и его здоровье*. – 2022. – Т. 25, № 4. – С. 5–10.

63. Патент № 2003366 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/12, А61В 18/20, А61N 5/06. Способ гемостаза при травме паренхиматозного органа : № 04855574 : заявл. 30.07.1990 : опубл. 30.11.1993 / Абакумов М. М., Владимирова Е. С. – 4 с.

64. Патент № 2791246 Российская Федерация, МПК А61В 17/00 (2006.01), А61В 17/04 (2006.01). Способ выбора метода хирургического лечения травматических повреждений печени : № 2022115582 : заявл. 08.06.2022 : опубл. 06.03.2023 / В. С. Грошилин, К. А. Чубарян ; патентообладатель ФГБОУ ВО «РГМУ». – 22 с.

65. Пахлеваян, В. Г. Инновационные технологии электрокоагуляционного гемостаза в хирургии паренхиматозных органов брюшной полости / В. Г. Пахлеваян, С. А. Колесников, О. В. Захаров // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2016. – № 1-2. – С. 29–33.
66. Периоперационные изменения в системе гемостаза при комбинированной анестезии ксеноном и дексмететомидином при радикальных операциях по поводу рака желудка / С. Г. Афанасьев, В. В. Фальтин, С. В. Авдеев [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2020. – № 3(71). – С. 48–52.
67. Петлах, В. И. Роль местных гемостатиков при оказании хирургической помощи больным и пораженным / В. И. Петлах // Главный врач Юга России. – 2014. – № 5. С. 12–13.
68. Повреждение печени у пострадавших с тяжёлой сочетанной травмой / О. Н. Эргашев, А. В. Гончаров, А. С. Прядко, Ю. М. Виноградов // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2011. – Т. 170, № 6. – С. 52–55.
69. Применение нового гемостатического средства «ГАМАСТАТ» при паренхиматозном кровотечении в эксперименте / Н. И. Мельнова, И. С. Жаворонок, И. Н. Жук [и др.] // Военная медицина. – 2013. – № 2. – С. 62–66.
70. Применение различных методов интраоперационного гемостаза при лапароскопических операциях на органах мочеполовой системы у детей / Ф. О. Туров, С. П. Яцык, И. В. Поддубный [и др.] // Урология. – 2018. – № 2. – С. 94–99.
71. Применение фибрин-коллагеновой субстанции при повреждениях селезенки / В. А. Горский, М. А. Агапов, А. В. Протасов, Р. Р. Исхаков // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2013. – № 12. – С. 73–77.
72. Проблемы гемостаза и герметизма при резекциях печени с использованием фибрин-коллагеновой субстанции / А. Г. Бунатян, З. С. Завенян, Н. Н. Багмет [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2003. – № 9. – С. 18–23.
73. Результаты применения лапароскопии у больных с повреждениями живота / А. А. Гуляев, М. А. Тлибекова, П. А. Ярцев [и др.] // Клиническая и

экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. – 2014. – № 3 (5). – С. 78–83.

74. Роткин, Е. А. Особенности диагностики и лечения повреждений паренхиматозных органов живота при политравме / Е. А. Роткин, А. Х. Агаларян, В. В. Агаджанян // Политравма. – 2023. – № 1. – С. 29–33.

75. Сварич, В. Г. Гемостаз при центральном разрыве печени у ребенка / В. Г. Сварич, В. А. Сварич. – DOI 10.17116/hirurgia2023021115 // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2023. – № 2. – С. 115–119.

76. Северинов, Д. А. Оценка эффективности использования местных кровоостанавливающих средств в эксперименте / Д. А. Северинов, В. А. Липатов // Детская хирургия. – 2022. – Т. 26, № S1. – С. 141–142.

77. Семичев, Е. В. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы) / Е. В. Семичев, О. Ю. Бородин, П. С. Бушланов // РМЖ. – 2012. – № 20. – С. 1743–1746.

78. Сигуа, Б. В. Закрытая травма печени / Б. В. Сигуа, В. П. Земляной, А. К. Дюков // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2013. – № 4. – С. 49–54.

79. Сигуа, Б. В. Сочетанная и изолированная травма живота с повреждением печени / Б. В. Сигуа, В. П. Земляной, А. К. Дюков // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 1. – С. 9–15.

80. Синьков, С. В. Сравнительная характеристика методов тромбоэластографии и электрокоагулографии для оценки системы гемостаза / С. В. Синьков, И. Б. Заболотских // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – № S3(67). – С. 382–384.

81. Смоляр, А. Н. Закрытая травма живота. Повреждения печени. Часть 1 / А. Н. Смоляр // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2015. – № 12. – С. 5–13.

82. Смоляр, А. Н. Одноэтапное хирургическое лечение тяжелой закрытой сочетанной травмы печени / А. Н. Смоляр, К. Р. Джаграев // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2015. – № 2. – С. 79–81.

83. Современные подходы в изучении печёночной недостаточности на биологических моделях / А. Ю. Лаптиева, А. А. Глухов, А. А. Андреев [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2022. – Т. 15, № 3(56). – С. 262–267.

84. Современные принципы техники оперативных вмешательств на печени / В. А. Вишневский, А.В. Чжао, Н.А. Назаренко [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 1996. – Т. 1, № 1. – С. 15–23.

85. Солдатова, Д. С. Эффективность комбинированного средства с гемостатической и противоспаечной активностью при операциях на печени в эксперименте / Д. С. Солдатова, А. И. Бежин, Т. А. Ишунина. – DOI 10.16931/1995-5464.20204126-135 // Анналы хирургической гепатологии. – 2020. – Т. 25, № 4. – С. 126–135.

86. Солдатова, Д. С. Изучение влияния концентрации натрий-карбоксиметилцеллюлозы на кровоостанавливающую и противоспаечную активность при операциях на печени в эксперименте / Д. С. Солдатова, А. И. Бежин, Т. Н. Кудрявцева. – DOI 10.47093/2218-7332.2020.11.1.4-14 // Сеченовский вестник. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 4–14.

87. Сравнительная оценка гемостатических свойств локальных покрытий на основе каппа-каррагинана *in vitro* / Г. Г. Белозерская, А. П. Момот, М. В. Пыхтеева [и др.] // Клиническая физиология кровообращения. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 148–157.

88. Сравнительная характеристика методов местного гемостаза при кровотечении из печени в эксперименте / В. Н. Бордаков, М. В. Доронин, Д. С. Савицкий, М. П. Василевский // Медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 30–34.

89. Сравнительная эффективность аппликационных гемостатических средств местного действия при остановке экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения / В. В. Давыденко, Т. Д. Власов, И. Н. Доброскок [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 186–194.

90. Тактика кровосбережения при обширных резекциях печени / Г. Э. Черкасов, Н. Н. Багмет, И. Н. Соловьева, Г. А. Шатверян. – DOI 10.17116/hirurgia2020071111 // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2020. – № 7. – С. 111–118.
91. Тимербулатов, М. В. Органосохраняющая и миниинвазивная хирургия селезенки при ее повреждениях / М. В. Тимербулатов, А. Г. Хасанов, Р. Р. Фаязов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2007. – Т. 2, № 5. – С. 25–29.
92. Хирургические операции на печени, желчных путях и поджелудочной железе Часть II. Хирургия желчных путей / Ю. А. Пархисенко, А. И. Жданов, В. Ю. Пархисенко, Р. С. Калашник // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 137–149.
93. Хирургия печени. Оперативная техника и миниинвазивные технологии : руководство для врачей / под ред. О. Г. Скипенко. – Москва : Медицинское информационное агентство, 2016. – 304 с.
94. Чарышкин, А. Л. Оценка результатов ушивания ран печени и селезенки при закрытых травмах органов брюшной полости / А. Л. Чарышкин, М. Р. Гафиуллов, В. П. Демин // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 593–595.
95. Чижиков, Г. М. Сравнительный анализ гемостатической активности новых средств для остановки капиллярно-паренхиматозного кровотечения (эксперимент *in vivo*) / Г. М. Чижиков // Вестник экспериментальной клинической хирургии. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 390–392.
96. Чикаев, В. Ф. Принципы диагностики и лечения пострадавших при сочетанной травме с повреждениями паренхиматозных органов брюшной полости / В. Ф. Чикаев, Р. А. Ибрагимов, Ю. В. Бондарев // Практическая медицина. – 2010. – № 8 (47). – С. 109–112.
97. Чубарян К. А., Грошилин В. С., Лукаш Ю. В. Возможности улучшения результатов хирургического лечения пациентов с тяжелыми травмами печени // Политравма. – 2024. – №. 3. – С. 19-27.

98. Шевченко, В. Г. Основы физики полимерных композиционных материалов : учебное пособие для студентов специальности «Композиционные материалы» / В. Г. Шевченко. – Москва, 2010. – 98 с.

99. Экспериментальная оценка динамики и степени биodeградации новых образцов кровоостанавливающих имплантатов на основе карбоксиметилцеллюлозы / Д. А. Герасимов, Н. В. Новикова, В. А. Липатов, А. Н. Тельнов // Забайкальский медицинский вестник. – 2016. – № 1. – С. 81–85.

100. Экспериментальное изучение новых средств местного гемостаза в хирургии печени и селезенки / Г. М. Чижиков, А. И. Бежин, А. В. Иванов [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 1. – С. 19–25.

101. Экспериментальное обоснование кровоостанавливающего эффекта 3% геля карбоксиметилцеллюлозы / А. И. Бежин, Д. С. Солдатова, И. В. Литвиненко, А. Б. Горпинич. – DOI 10.21626/vestnik/2018-4/12 // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2018. – № 4. – С. 72–79.

102. Экспериментальное обоснование применения нового метода хирургического гемостаза обширных травматических повреждений печени / А. К. Воронцов, Ю. А. Пархисенко, Е. Ф. Чередников [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2023. – Т. 20, № 2. – С. 45–50.

103. Экспериментально-морфологическое обоснование применения коллагена при лечении ран мягких тканей / А. А. Глухов, Р. Н. Фролов, А. А. Андреев, Н. Т. Алексеева // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – № 4. – С. 107–108.

104. Эндовидеохирургические вмешательства при травме груди и живота / И. Е. Хатьков, Р. Е. Израилов, А. А. Панкратов, А. В. Жданов // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2016. – № 1. – С. 15–19.

105. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований *in vivo*. Часть I / В. А. Липатов, А. А. Крюков, Д. А. Северинов, А. Р. Саакян. – DOI 10.23888/PAVLOVJ201927180-92 // Российский

медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2019. – Т. 27, № 1. – С. 80–92.

106. Этические и правовые аспекты проведения экспериментальных биомедицинских исследований *in vivo*. Часть II / В. А. Липатов, Д. А. Северинов, А. А. Крюков, А. Р. Саакян. – DOI 10.23888/PAVLOVJ2019272245-257 // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2019. – Т. 27, № 2. – С. 245–257.

107. Янбарисова, Э. В. Диагностика и хирургическая тактика при повреждениях паренхиматозных органов брюшной полости / Э. В. Янбарисова, Ю. А. Бадретдинова, А. Г. Хасанов // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 6. – С. 73–76.

108. A highly efficient, *in situ* wet-adhesive dextran derivative sponge for rapid hemostasis / C. Liu, X. Liu, C. Liu [et al.]. – DOI 10.1016/j.biomaterials.2019.03.016 // Biomaterials. – 2019. – Vol. 205. – P. 23–37.

109. A multicentre, prospective, randomized, controlled trial comparing EVARREST™ fibrin sealant patch to standard of care in controlling bleeding following elective hepatectomy: anatomic versus non-anatomic resection / J. B. Koea, J. Batiller, N. Aguirre [et al.]. – DOI 10.1016/j.hpb.2015.12.006 // HPB (Oxford). – 2016. – Vol. 18, Iss. 3. – P. 221–228.

110. A mussel-inspired wet-adhesion hydrogel with hemostasis and local anti-inflammation for managing the development of acute wounds / J. Zhu, K. Zhong, Y. Zong [et al.]. – DOI 10.1016/j.matdes.2021.110347 // Materials & Design. – 2022. – Vol. 213. – Art. 110347.

111. A polymer-based systemic hemostat for managing uncontrolled bleeding / Y. Gao, M. Ikeda-Imafuku, Z. Zhao [et al.]. – DOI 10.1002/btm2.10516 // Bioengineering & translational medicine. – 2023. – Vol. 8, Iss. 3. – Art. e10516.

112. A strongly adhesive hemostatic hydrogel for the repair of arterial and heart bleeds / Y. Hong, F. Zhou, Y. Hua [at al.] // Nature communications. – 2019. – Vol. 10. – Art. 2060.

113. Afifi, R. Y. Blunt abdominal trauma: back to clinical judgement in the era of modern technology / R. Y. Afifi. – DOI 10.1016/j.ijssu.2006.09.005 // International Journal of Surgery. – 2008. – Vol. 6, Iss. 2. – P. 91–95.

114. An efficacy comparison of two hemostatic agents in a porcine liver bleeding model: gelatin/thrombin flowable matrix versus collagen/thrombin powder / P. Slezak, C. Keibl, H. Redl [et al.]. – DOI 10.1080/08941939.2019.1571130 // Journal of investigative surgery. – 2020. – Vol. 33, Iss. 9. – P. 828–838.

115. An injectable serotonin-chondroitin sulfate hydrogel for bio-inspired hemostatic adhesives with high wound healing capability / X. Zhang, Z. Ma, Y. Ke [et al.]. – DOI 10.1039/D1MA00137J // Materials Advances. – 2021. – Vol. 2, Iss. 15. – P. 5150–5159.

116. An international multidisciplinary peer-driven consensus on the optimal use of hemostatic powders in surgical practice / C. Eden, O. C. Buonomo, J. Busch [et al.]. – DOI 10.1007/s13304-021-01136-x // Updates in Surgery. – 2021. – Vol. 73, Iss. 4. – P. 1267–1273.

117. An S, Jeon EJ, Jeon J, Cho S-W.. A serotonin-modified hyaluronic acid hydrogel for multifunctional hemostatic adhesives inspired by a platelet coagulation mediator. Mater Horiz 2019;6:1169–78.

118. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review / Y. Zhong, H. Hu, N. Min [et al.]. – DOI 10.21037/atm-20-7160 // Annals of translational medicine. – 2021. – Vol. 9, No. 7. – Art. 577.

119. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review / Y. Zhong, H. Hu, N. Min [et al.]. – DOI 10.21037/atm-20-7160 // Annals of translational medicine. – 2021. – Vol. 9, No. 7. – Art. 577.

120. Bacteria-engineered porous sponge for hemostasis and vascularization / J. Bian, L. Bao, X. Gao [et al.]. – DOI 10.1186/s12951-022-01254-7 // Journal of nanobiotechnology. – 2022. – Vol. 20, № 1. – Art. 47.

121. Berrevoet, F. Use of topical hemostatic agents during liver resection / F. Berrevoet, B. de Hemptinne. – DOI 10.1159/000103660 // Digestive Surgery. – 2007. – Vol. 24, Iss. 4. – P. 288–293.

122. Biological compatibility of oxidized cellulose vs. porcine gelatin to control bleeding in liver lesions in rats / M. L. P. Biondo-Simões, J. A. Zwierzikowski, J. C. D. Antoria [et al.] // *Acta cirúrgica brasileira*. – 2022. – Vol. 36, Iss. 11. – Art. e361101.

123. Biomaterials and advanced technologies for hemostatic management of bleeding / D. A. Hickman, C. L. Pawlowski, U. D. S. Sekhon [et al.]. – DOI 10.1002/adma.201700859 // *Advanced materials*. – 2018. – Vol. 30, Iss. 4. – Art. 1700859.

124. Biomimetic glycopolyptide hydrogels with tunable adhesion and microporous structure for fast hemostasis and highly efficient wound healing / L. Teng, Z. Shao, Q. Bai [et al.]. – DOI 10.1002/adfm.202105628 // *Advanced Functional Materials*. – 2021. – Vol. 31, Iss. 43. – Art. 2105628.

125. Bolton, L. Local tranexamic acid reduces surgical blood loss / L. Bolton. – DOI 10.25270/wnds/2022.6870 // *Wounds*. – 2022. – Vol. 33, Iss. 2. – P. 68–70.

126. Brustia, R. An update on topical haemostatic agents in liver surgery: systematic review and meta-analysis / R. Brustia, B. Granger, O. Scatton. – DOI 10.1002/jhbp.389 // *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences*. – 2016. – Vol. 23, Iss. 10. – P. 609–621.

127. Carrageenan based bionanocomposites as drug delivery tool with special emphasis on the influence of ferromagnetic nanoparticles / A. K. Khan, A. U. Saba, S. Nawazish [et al.]. – DOI 10.1155/2017/8158315 // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2017. – Vol. 2017. – Art. 8158315.

128. Characterization and analysis of chitosan-gelatin composite-based biomaterial effectivity as local hemostatic agent: a systematic review / H. Herliana, H. Y. Yusuf, A. Laviana [et al.]. – DOI 10.3390/polym15030575 // *Polymers (Basel)*. – 2023. – Vol. 15, Iss. 3. – Art. 575.

129. Chitosan-Based Biomaterials for Hemostatic Applications: A Review of Recent Advances / D. Gheorghiță, H. Moldovan, A. Robu [et al.]. – DOI 10.3390/ijms241310540 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, Iss. 13. – Art. 10540.

130. Chondroitin sulfate from fish waste exhibits strong intracellular antioxidant potential / L. H. C. Medeiros, B. M. F. Vasconcelos, M. B. Silva [et al.]. – DOI 10.1590/1414-431X2020e10730 // Brazilian journal of medical and biological research. – 2021. – Vol. 54, Iss. 10. – e10730.

131. Chondroitin sulfate-based biomineralizing surface hydrogels for bone tissue engineering / H. D. Kim, E. A. Lee, Y. H. An [et al.]. – DOI 10.1021/acsami.7b04114 // ACS applied materials & interfaces. – 2017. – Vol. 9, No. 26. – P. 21639–2150.

132. Clinical application of a new hemostatic material using mussel-inspired catecholamine hemostat: A pilot study / Y. M. Park, H. I. Seo, J. H. Kim [at al.]. – DOI 10.14701/ahbps.21-077 // Annals of hepato-biliary-pancreatic surgery. – 2022. – Vol. 26, Iss. 1. – P. 98–103.

133. Clotting factor XIII and desmopressin improve hemostasis in uncontrolled bleeding / P. R. Carreiro, J. B. Rezende-Neto, T. de A. Lisboa [et al.] // Acta cirúrgica brasileira. – 2015. – Vol. 30, Iss. 3. – P. 170–177.

134. Comparative analysis of surgical hemostatic sponges in liver injury: study in rats / C. E. R. Fontes, M. J. Mardegam, O. R. Prado-Filho, M. V. Ferreira. – DOI 10.1590/0102-672020180001e1342 // Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva. – 2018. – Vol. 31, Iss. 1. – Art. e1342.

135. Comparative evaluation of the effectiveness of a combination of absorbable gelatin sponge and calendula officinalis with absorbable gelatin sponge used alone as a hemostatic agent-an in-vitro study / B. K. Ayyanahalli Matta, S. Kumar, C. H. Mehta [et al.]. – DOI 10.3390/dj10050076 // Dent J (Basel). – 2022. – Vol. 10, Iss. 5. – Art. 76.

136. Complications of high grade liver injuries: management and outcomewith focus on bile leaks / M. Bala, S. A. Gazalla, M. Faroja [et al.]. – DOI 10.1186/1757-7241-20-20 // Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine. – 2012. – Vol. 20. – Art. 20.

137. Conjugate electrospun 3D gelatin nanofiber sponge for rapid hemostasis / X. Xie, D. Li, Y. Chen [et al.]. – DOI 10.1002/adhm.202100918 // Advanced healthcare materials. – 2021. – Vol. 10, Iss. 20. – Art. e2100918.

138. Cziperle, D. J. Avitene™ Microfibrillar Collagen Hemostat for Adjunctive Hemostasis in Surgical Procedures: A Systematic Literature Review / D. J. Cziperle. – DOI 10.2147/MDER.S298207 // Medical devices (Auckland, N.Z.). – 2021. – Vol. 14. – P. 155–163.
139. Denry, I. Tranexamic acid-loaded hemostatic nanoclay microsphere frameworks / I. Denry, J. M. Nédélec, J. A. Holloway. – DOI 10.1002/jbm.b.34918 // Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials. – 2022. – Vol. 110, Iss. 2. – P. 422–430.
140. Design of functional hydrogels using smart polymer based on elastin-like polypeptides / Z. Guo, Y. Xu, L. Dong [et al.]. – DOI 10.1016/j.cej.2022.135155 // Chemical Engineering Journal. – 2022. – Vol. 435, Part 3. – Art. 135155.
141. Development of carboxymethyl cellulose nonwoven sheet as a novel hemostatic agent / S. Ohta, T. Nishiyama, M. Sakoda [et al.] – DOI 10.1016/j.jbiosc.2014.10.026 // Journal of bioscience and bioengineering. – 2015. – Vol. 119, Iss. 6. – P. 718–723.
142. Donley, E. R. Hemorrhage Control / E. R. Donley, J. W. Loyd // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535393/> (date last accessed: 13.08.2023).
143. Drugs to reduce bleeding and transfusion in major open vascular or endovascular surgery: a systematic review and network meta-analysis / A. Beverly, G. Ong, C. Kimber [et al.]. – DOI 10.1002/14651858.CD013649.pub2 // The Cochrane database of systematic reviews. – 2023. – Vol. 2, Iss. 2. – Art. CD013649.
144. Effects of fibrin pad hemostat on the wound healing process in vivo and in vitro / A. M. Harmon, W. Kong, C. S. Buensuceso [et al.]. – DOI 10.1016/j.biomaterials.2011.09.019 // Biomaterials – 2011. – Vol. 32, No. 36. – P. 9594–9601.
145. Efficacy and safety of regenerated cellulose topical gauze haemostats in managing secondary haemostasis: a randomised control trial / R. Develle, R. Schaerf, S. Najibi [et al.]. – DOI 10.12968/jowc.2020.29.11.670 // Journal of wound care. – 2020. – Vol. 29, Iss. 11. – P. 670–677.

146. Efficacy of a novel polyoxazoline-based hemostatic patch in liver and spleen surgery / E. A. Roozen, R. M. L. M. Lomme, N. U. B. Calon [et al.]. – DOI 10.1186/s13017-023-00483-x // World journal of emergency surgery. – 2023. – Vol. 18, Iss. 1. – Art. 19.

147. Efficacy of different hemostatic devices for severe liver bleeding: a randomized controlled animal study / I. Takacs, J. Wegmann, S. Horváth [et al.]. – DOI 10.1177/1553350610384405 // Surgical innovation. – 2010. – Vol. 17, Iss. 4. – P. 346–352.

148. Efficacy of Flowable Collagen hemostat evaluated in preclinical models of liver injury and spinal cord exposure / S. P. Lake, K. Bradbury, D. H. Gagne [et al.]. – DOI 10.2147/MDER.S411735 // Medical devices (Auckland, N.Z.). – 2023. – Vol. 16. – P. 123–132.

149. Efficient, biosafe and tissue adhesive hemostatic cotton gauze with controlled balance of hydrophilicity and hydrophobicity / H. He, W. Zhou, J. Gao [at al.] // Nature communications. – 2022. – Vol. 13, Iss. 1. – Art. 552.

150. Elsabahy, M. Design and preclinical evaluation of chitosan/kaolin nanocomposites with enhanced hemostatic efficiency / M. Elsabahy, M. A. Hamad. – DOI 10.3390/md19020050 // Marine drugs. – 2021. – Vol. 19, Iss. 2. – Art. 50.

151. Enhancement of hemostatic property of plant derived oxidized nanocellulose-silk fibroin based scaffolds by thrombin loading / A. A. Shefa, M. Taz, S. Y. Lee, B. T. Lee. – DOI 10.1016/j.carbpol.2018.12.056 // Carbohydrate Polymers. – 2019. – Vol. 208. – P. 168–179.

152. Ergin, M. Comparison of hemostatic efficacy of topical Ankaferd Blood Stopper on heparinized and nonheparinized rats in bleeding related to liver injury / M. Ergin, N. Özer. – DOI 10.1590/ACB360106 // Acta cirúrgica brasileira. – 2021. – Vol. 36, Iss. 1. – Art. e360106.

153. Evaluation of novel hemostatic agents in a coagulopathic swine model of junctional hemorrhage / K. A. Gerling, A. J. Kersey, A. L. Lauria [et al.]. – DOI 10.1097/TA.0000000000004071 // The Journal of Trauma and Acute Care Surgery. – 2023. – Vol. 95. – P. S144–S151.

154. Evaluation of the hemostatic effect of a combination of hemostatic agents and fibrin glue in a rabbit venous hemorrhage model / Takizawa K., Okazaki D., Takegawa Y. [et al.] // BMC Neurol. – 2021. – T. 21, №1. – C. 270-275.

155. Experience with the use of a hemostatic powder in 152 patients undergoing urgent endoscopy for gastrointestinal bleeding / A. Becq, C. Houdeville, M.-L. Tran Minh [et al.]. – DOI 10.1016/j.clinre.2020.10.003 // Clinics and research in hepatology and gastroenterology. – 2021. – Vol. 45, Iss. 5. – Art. 101558.

156. Experimental evaluation of chitosan membrane and collagen sponge (TachoSil®) as sealants in Cardiovascular Surgery / R. N. Dos Santos, G. B. C. Cardoso, M. R. Cunha [et al.]. – DOI 10.21470/1678-9741-2021-0432 // Brazilian journal of cardiovascular surgery. – 2022. – Vol. 37, Iss. 2. – P. 176–184.

157. Fabrication of chitosan calcium alginate microspheres with porous core and compact shell, and application as a quick traumatic hemostat / X. Wu, Z. Tang, X. Liao [et al.]. – DOI 10.1016/j.carbpol.2020.116669 // Carbohydrate polymers. – 2020. – Vol. 247. – Art. 116669.

158. Fairand, B. P. Radiation sterilization / B. P. Fairand, D. Razem, K. Hemmerich // Parenteral Medications. – Fourth Edition. – Boca Raton : CRC Press, 2019. – Chapter 34. – P. 733–754.

159. Feliciano, D. V. Abdominal vascular hemorrhage / D. V. Feliciano. – DOI 10.1016/j.sopen.2021.11.005 // Surgery Open Science. – 2020. – Vol. 7. – P. 52–57.

160. Fibrin sealants in cardiac surgery: The last five years of their development and application / R. Novotny, J. Hlubocký, P. Mitáš, J. Lindner. – DOI 10.17219/acem/68981 // Advances in clinical and experimental medicine. – 2018. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 857–862.

161. Forbes, J. Abdominal Gunshot Wounds / J. Forbes, B. Burns // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564335/> (дата обращения: 31.05.2023).

162. Freeze-drying process for the fabrication of collagen-based sponges as medical devices in biomedical engineering / C. Katrilaka, N. Karipidou, N. Petrou [et al.]. – DOI 10.3390/ma16124425 // Materials (Basel). – 2023. – Vol. 16, Iss. 12. – Art. 4425.

163. Gelatin blending and sonication of chitosan nanofiber mats produce synergistic effects on hemostatic functions / B. K. Gu, S. J. Park, M. S. Kim [et al.]. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.009 // International journal of biological macromolecules. – 2016. – Vol. 82. – P. 89–96.

164. Gelatin-based hemostatic agents for medical and dental application at a glance: A narrative literature review / N. I. Irfan, A. Z. Mohd Zubir, A. Suwandi [et al.]. – DOI 10.1016/j.sdentj.2022.11.007 // Saudi Dent Journal. – 2022. – Vol. 34, Iss. 8. – P. 699–707.

165. Gellable silk fibroin-polyethylene sponge for hemostasis / W. Wei, J. Liu, Z. Peng [et al.]. – DOI 10.1080/21691401.2019.1699805 // Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. – 2020. – Vol. 48, Iss. 1. – P. 28–36.

166. Hemostatic agents and tissue sealants: potential mimics of abdominal abnormalities / A. C. Morani, J. F. Platt, A. J. Thomas [et al.]. – DOI 10.2214/AJR.17.18991 // AJR. American journal of roentgenology. – 2018. – Vol. 211, Iss. 4. – P. 760–766.

167. Hemostatic collagen sponge with high porosity promotes the proliferation and adhesion of fibroblasts and osteoblasts / E. D'Amico, T.V. Pierfelice, S. Lepore [et al.]. – DOI 10.3390/ijms24097749 // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 24, Iss. 9. – P. 7749–7760.

168. Hemostatic effects of traditional Inula viscosa and Capsella bursa-pastoris plant mixture extract on rat liver parenchymal bleeding model / O. U. Öztürk, M. Ugur, Y. Güzel [at al.]. – DOI 10.14744/tjtes.2022.90838 // Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi. – 2022. – Vol. 28, No. 8. – P. 1059–1065.

169. Hemostatic efficacy of two topical adjunctive hemostats in a porcine spleen biopsy punch model of moderate bleeding / M. H. MacDonald, G. Zhang, L. Tasse [at al.]. – DOI 10.1007/s10856-021-06586-8 // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2021. – Vol. 32, № 10. – Art. 127.

170. Hemostatic, antibacterial and degradable performance of the water-soluble chitosan-coated oxidized regenerated cellulose gauze / J. M. He, Y. D. Wu, F. W. Wang

[et al.]. – DOI 10.1007/s12221-014-0504-5 // *Fibers and Polymers*. – 2014. – Vol. 15, Iss. 3. – P. 504–509.

171. Highly water-preserving zwitterionic betaine-incorporated collagen sponges with anti-oxidation and anti-inflammation for wound regeneration / A. Chen, Y. An, W. Huang [et al.] // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2020. – Vol. 8. – Art. 491.

172. Hyaluronic acid and wound healing / M. G. Neuman, R. M. Nanau, L. Oruña-Sanchez, G. Coto. – DOI 10.18433/j3k89d // *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*. – 2015. – Vol. 18, Iss. 1. – P. 53–60.

173. In situ injectable hyaluronic acid/gelatin hydrogel for hemorrhage control / J.-W. Luo, C. Liu, J.-H. Wu. – DOI 10.1016/j.msec.2019.01.034 // *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*. – 2019. – Vol. 98. – P. 628–634.

174. Injectable adhesive self-healing biocompatible hydrogel for haemostasis, wound healing, and postoperative tissue adhesion prevention in nephron-sparing surgery / Z. Wan, J. He, Y. Yang [et al.]. – DOI 10.1016/j.actbio.2022.09.006 // *Acta biomaterialia*. – 2022. – Vol. 152. – P. 157–170.

175. Injectable hydrogel composed of hydrophobically modified chitosan/oxidized-dextran for wound healing / X. Du, Y. Liu, X. Wang [et al.]. – DOI 10.1016/j.msec.2019.109930 // *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*. – 2019. – Vol. 104. – Art. 109930.

176. Intraoperative anaphylaxis in response to hemostatic agents with protein derivatives / S. E. Holbert, D. Patel, T. Rizk [et al.]. – DOI 10.7759/cureus.9881 // *Cureus*. – 2020. – Vol. 12, No. 8. – Art. e9881.

177. Jorgensen, M. R. Advances in biocompatibility: a prerequisite for biomedical application of biopolymers / M. R. Jorgensen, H. Räägel, T. S. Rollins // *Biopolymers for Biomedical and Biotechnological Applications* / ed.: B. H. A. Rehm, M. F. Moradali. – First Edition. – Weinheim : Wiley-VCH GmbH, 2021. – Chapter 1. – P. 1–17.

178. Kaptanoglu, L. Current approach to liver traumas / L. Kaptanoglu, N. Kurt, H. E. Sikar. – DOI 10.1016/j.ijssu.2017.02.015 // *International Journal of Surgery*. – 2017. – Vol. 39. – P. 255–259.

179. Kattula, S. Fibrinogen and fibrin in hemostasis and thrombosis / S. Kattula, J. R. Byrnes, A. S. Wolberg. – DOI 10.1161/ATVBAHA.117.308564 // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2017. – Vol. 37, No. 3. – P. 13–21.
180. Keratin – based materials for biomedical applications / S. Feroz, N. Muhammad, J. Ratnayake, G. Dias. – DOI 10.1016/j.bioactmat.2020.04.007 // *Bioactive materials*. – 2020. – Vol. 5, Iss. 3. – P. 496–509.
181. Lew, W. K. Clinical use of topical thrombin as a surgical hemostat / W. K. Lew, F. A. Weaver. – DOI 10.2147/btt.s2435 // *Biologics*. – 2008. – Vol. 2, No. 4. – P. 593–599.
182. Litvinov, R. I. Fibrin mechanical properties and their structural origins / R. I. Litvinov, J. W. Weisel. – DOI 10.1016/j.matbio.2016.08.003 // *Matrix Biology*. – 2017. – Vol. 60-61. – P. 110–123.
183. Liver Trauma: Management in the Emergency Setting and Medico-Legal Implications / A. Saviano, V. Ojetti, C. Zanza [et al.]. – DOI 10.3390/diagnostics12061456 // *Diagnostics (Basel)*. – 2022. – Vol. 12, Iss. 6. – Art. 1456.
184. Liver Trauma: Until When We Have to Delay Surgery? A Review / I. C. García, J. S. Villalba, D. Iovino [et al.]. – DOI 10.3390/life12050694 // *Life (Basel)*. – 2022. – Vol. 12, No. 5. – Art. 694.
185. Liver trauma: WSES 2020 guidelines / F. Coccolini, R. Coimbra, C. Ordonez [et al.]. – DOI 10.1186/s13017-020-00302-7 // *World Journal of Emergency Surgery*. – 2020. – Vol. 15. – Art. 24.
186. Liu T. et al. Electrospun nanofiber membranes for rapid liver hemostasis via N-alkylated chitosan doped chitosan / PEO // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2024. – T. 258. – C. 128948.
187. Lotfollahzadeh, S. Penetrating Abdominal Trauma / S. Lotfollahzadeh, B. Burns // *StatPearls [Internet]*. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459123/> (дата обращения: 30.04.2023).

188. Malhotra, A. K. Contribution by Dr Timothy C Fabian: liver trauma / A. K. Malhotra. – DOI 10.1136/tsaco-2023-001116 // Trauma Surgery and Acute Care Open. – 2023. – Vol. 8, Suppl. 1. – Art. e001116.
189. Malinowski, M. Using X-ray technology to sterilize medical devices / M. Malinowski. – DOI 10.34297/AJBSR.2021.12.001755 // American Journal of Biomedical Science & Research. – 2021. – Vol. 12, No. 3. – P. 272–276.
190. Management of acute intra-abdominal hemorrhage in ruptured hepatoblastoma with transarterial embolization using calibrated gelfoam particles / K. F. K. Fung, A. P Liu, P. H. Chung [et al.]. – DOI 10.1002/pbc.30019 // Pediatric blood & cancer. – 2023. – Vol. 70, Iss. 1. – Art. e30019.
191. Management of an acutely bleeding hepatic adenoma / J. M. Turner, C. A. Hughes, A. MacHugh, J. J. DuBose. – DOI 10.1136/tsaco-2022-001042 // Trauma surgery & acute care open. – 2023. – Vol. 8, No. 1. – Art. e001042.
192. Matonick, J. P. Hemostatic efficacy of EVARREST™, fibrin sealant patch vs. TachoSil® in a heparinized swine spleen incision model / J. P. Matonick, J. Hammond. – DOI 10.3109/08941939.2014.941444 // Journal of investigative surgery. – 2014. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 360–365.
193. Meyer, M. Processing of collagen based biomaterials and the resulting materials properties / M. Meyer. – DOI 10.1186/s12938-019-0647-0 // Biomedical engineering online. – 2019. – Vol. 18, Iss. 1. – Art. 24.
194. Microchannelled alkylated chitosan sponge to treat noncompressible hemorrhages and facilitate wound healing / X. Du, L. Wu, H. Yan [et al.] // Nature communications. – 2021. – Vol. 12, No. 1. – Art. 4733.
195. Morphology-controllable cellulose/chitosan sponge for deep wound hemostasis with surfactant and pore-foaming agent / X. Fan, M. Li, Q. Yang [et al.]. – DOI 10.1016/j.msec.2020.111408 // Materials science & engineering. C, Materials for biological applications. – 2021. – Vol. 118. – Art. 111408.
196. Nair, L. S. Biodegradable polymers as biomaterials / L. S. Nair, C. T. Laurencin. – DOI 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017 // Progress in Polymer Science. – 2007. – Vol. 32, Iss. 8–9. – P. 762–798.

197. New hemostatic device for grade IV-V liver injury in porcine model: a proof of concept / J. J. Segura-Sampedro, C. Pineño-Flores, A. Craus-Miguel [et al.]. – DOI 10.1186/s13017-019-0277-7 // *World journal of emergency surgery*. – 2019. – Vol. 14. – Art. 58.

198. Novel hemostatic biomolecules based on elastin-like polypeptides and the self-assembling peptide RADA-16 / S. Yang, S. Wei, Y. Mao [et al.]. – DOI 10.1186/s12896-018-0422-5 // *BMC biotechnology*. – 2018. – Vol. 18, Iss. 1. – Art. 12.

199. Obermair, H. Real-world surgical outcomes of a gelatin-hemostatic matrix in women requiring a hysterectomy: a matched case-control study / H. Obermair, M. Janda, A. Obermair. – DOI 10.1111/aogs.12924 // *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. – 2016. – Vol. 95, No. 9. – P. 1008–1014.

200. O'Hanlan, K. A. Exploring Adverse Events and Utilization of Topical Hemostatic Agents in Surgery / K. A. O'Hanlan, P. Bassett. – DOI 10.4293/JSLS.2022.00033 // *JSLS*. – Vol. 26, No. 3. – Art. e2022.00033.

201. Organ injury scaling 2018 update: Spleen, liver, and kidney / R. A. Kozar, M. Crandall, K. Shanmuganathan [et al.]. – DOI 10.1097/TA.0000000000002058 // *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. – 2018. – Vol. 85, Iss. 6. – P. 1119–1122.

202. Oxidized resorbable cellulose (Gelita-cel) causing foreign body reaction in the mediastinum / T. A. Haidari, R. H. Petersen, B. G. Skov, J. Ravn. – DOI 10.1093/icvts/ivz166 // *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. – 2018. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 881–883.

203. Peng, H. T. Hemostatic agents for prehospital hemorrhage control: a narrative review / H. T. Peng. – DOI 10.1186/s40779-020-00241-z // *Military Medical Research*. – 2020. – Vol. 7, Iss. 1. – Art. 13.

204. Peng, T. Biomaterials for Hemorrhage Control / T. Peng // *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*. – 2010. – Vol. 24, Iss. 1. – P. 27–68.

205. Pereira, B. M. Topical hemostatic agents in surgery: review and prospects / B. M. Pereira, J. B. Bortoto, G. P. Fraga. – DOI 10.1590/0100-6991e-20181900 // *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. – 2018. – Vol. 45, Iss. 5. – Art. e1900.

206. Platelet-derived-extracellular vesicles promote hemostasis and prevent the development of hemorrhagic shock / E. Lopez, A.K Srivastava, J. Burchfield [et al.]. – DOI 10.1038/s41598-019-53724-y // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9, № 1. – Art. 17676.
207. Polymeric biomaterials for medical implants and devices / A. J. T. Teo, A. Mishra, I. Park [et al.]. – DOI 10.1021/acsbiomaterials.5b00429 // ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2016. – Vol. 2, Iss. 4. – P. 454–472.
208. Polysaccharide-based biomaterials in tissue engineering: a review / M. Jin, J. Shi, W. Zhu [et al.]. – DOI 10.1089/ten.TEB.2020.0208 // Tissue engineering. Part B, Reviews. – 2021. – Vol. 27, No. 6. – P. 604–626.
209. Practical suggestions for prevention of complications arising from oxidized cellulose retention: a case report and review of the literature / G. N. Piozzi, E. Reitano, V. Panizzo [et al.]. – DOI 10.12659/AJCR.910060 // The American journal of case reports. – 2018. – Vol. 19. – P. 812–819.
210. Preparation and hemostatic property of low molecular weight silk fibroin / C. Lei, H. Zhu, J. Li [et al.]. – DOI 10.1080/09205063.2015.1136918 // Journal of biomaterials science. Polymer edition. – 2016. – Vol. 27, No. 5. – P. 403–418.
211. Preparation and the hemostatic property study of porous gelatin microspheres both in vitro and in vivo / L. Li, Y. Du, Z. Yin [et al.]. – DOI 10.1016/j.colsurfb.2019.110641 // Colloids and Surf B Biointerfaces – 2020. – Vol. 187. – Art. 110641.
212. Pringle, J. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma / J. Pringle. – DOI 10.1097/00000658-190810000-00005 // Annals of surgery. – 2008. – Vol. 48, Iss. 4. – P. 541–549.
213. Przywózka-Suwał, A. The use of state of the art haemostatic materials in gastrointestinal surgery / A. Przywózka-Suwał, B. Ziółkowski, M. Szczepkowski. – DOI 10.5604/01.3001.0014.7914 // Polski przegląd chirurgiczny. – 2021. – Vol. 93, Iss. 1. – P. 49–54.

214. Rational design of high-performance keratin-based hemostatic agents / Y. Wang, Y. Xu, Z. Zhang [et al.]. – DOI 10.1002/adhm.202200290 // Advanced healthcare materials. – 2022. – Vol. 11, Iss. 15. – Art. e2200290.

215. Real-world economic and clinical outcomes associated with current hemostatic matrix use in spinal surgery / W. Danker, S. S. Kelkar, X. L. Marston [et al.]. – DOI 10.2217/ce-2021-0218 // Journal of Comparative Effectiveness Research. – 2022. – Vol. 11, Iss. 17. – P. 1231–1240.

216. Rescue fibrin glue-infiltrating hemostasis combined with hepatorrhaphy to control intractable postoperative bleeding from the liver cut surface / S. Hwang, B. G. Na, M. Kim, D. H. Won. – DOI 10.14701/ahbps.2021.25.4.517 // Annals of hepato-biliary-pancreatic surgery. – 2021. – Vol. 25, № 4. – P. 517–522.

217. Responsive biomaterials: advances in materials based on shape-memory polymers / J. G. Hardy, M. Palma, S. J. Wind, M. J. Biggs. – DOI 10.1002/adma.201505417 // Advanced materials. – 2016. – Vol. 28, Iss. 27. – P. 5717–5724.

218. Risk factors for hypercoagulability after laparoscopic hepatic haemangioma resection / M. Mei, H. Shi, Y. Cheng, W. Fu. – DOI 10.4103/jmas.jmas_69_22 // Journal of Minimal Access Surgery. – 2023. – Vol. 19, Iss. 2. – P. 245–251.

219. Safety and efficacy of local tranexamic acid for the prevention of surgical bleeding in soft-tissue surgery: a review of the literature and recommendations for plastic surgery / K. Ausen, R. Fossmark, O. Spigset, H. Pley. – DOI 10.1097/PRS.00000000000008884 // Plastic and Reconstructive Surgery. – 2022. – Vol. 149, Iss. 3. – P. 774–787.

220. Safety and efficacy of tranexamic acid in minimizing perioperative bleeding in extrahepatic abdominal surgery: meta-analysis / A. Koh, A. Adiamah, D. Gomez, S. Sanyal. – DOI 10.1093/bjsopen/zrab004 // BJS Open. – 2021. – Vol. 5, Iss. 2. – Art. zrab004.

221. Samudrala, S. Topical hemostatic agents in surgery: a surgeon's perspective / S. Samudrala. – DOI 10.1016/S0001-2092(08)00586-3 // AORN Journal. – 2008. – Vol. 88, Iss. 3. – P. S2–11.

222. Sanders, L. Clinical applications of surgical adhesives and sealants / L. Sanders, J. Nagatomi. – DOI 10.1615/critrevbiomedeng.2014011676 // Critical reviews in biomedical engineering. – 2014. – Vol. 42, Iss. 3–4. – P. 271–292.

223. Shape memory polymers and their composites in biomedical applications / W. Zhao, L. Liu, F. Zhang [et al.]. – DOI 10.1016/j.msec.2018.12.054 // Materials Science and Engineering. – 2018. – Vol. 97. – P. 864–883.

224. Silk fibroin as a functional biomaterial for tissue engineering / W. Sun, D. A. Gregory, M. A. Tomeh, X. Zhao. – DOI 10.3390/ijms22031499 // International journal of molecular sciences. – 2021. – Vol. 22, Iss. 3. – Art. 1499.

225. Silk fibroin-based biomaterials for hemostatic applications / M. T. Sultan, H. Hong, O. J. Lee [et al.]. – DOI 10.3390/biom12050660 // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12, Iss. 5. – Art. 660.

226. Simpson, A. Biomaterials for Hemostasis / A. Simpson, A. Shukla, A.C. Brown. – DOI 10.1146/annurev-bioeng-012521-101942 // Annual review of biomedical engineering. – 2022. – Vol. 24. – P. 111–135.

227. Sponges of carboxymethyl chitosan grafted with collagen peptides for wound healing / Y. Cheng, Z. Hu, Y. Zhao [et al.]. – DOI 10.3390/ijms20163890 // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20, Iss. 16. – Art. 3890.

228. Spotnitz, W. D. Hemostats, Sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox / W. D. Spotnitz, S. Burks. – DOI 10.1111/j.1537-2995.2008.01703.x // Transfusion. – 2008. – Vol. 48, Iss. 7. – P. 1502–1516.

229. Sung, Y. K. Advances in the development of hemostatic biomaterials for medical application / Y. K. Sung, D. R. Lee, D. J. Chung. – DOI 10.1186/s40824-021-00239-1 // Biomaterials research. – 2021. – Vol. 25, Iss. 1. – Art. s40824-021-00239-1.

230. The effect of biological sealants and adhesive treatments on matrix metalloproteinase expression during renal injury healing / J. M. Lloris-Carsí, C. Barrios, B. Prieto-Moure [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0177665 // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, Iss. 5. – Art. e0177665.

231. The use of haemostatic gelatin sponges in veterinary surgery / T. M. Charlesworth, P. Agthe, A. Moores, D. M. Anderson. – DOI 10.1111/j.1748-

5827.2011.01162.x // Journal of Small Animal Practice. – 2012. – Vol. 53, Iss. 1. – P. 51–56.

232. The use of local agents: bone wax, gelatin, collagen, oxidized cellulose / C. Schonauer, E. Tessitore, G. Barbagallo [et al.]. – DOI 10.1007/s00586-004-0727-z // European spine journal. – 2004. – Vol. 13, Suppl. 1. – P. S89–S96.

233. The value of laparoscopy in management of abdominal trauma / M. R. Chelly, K. Major, J. Spivak [et al.] // The American surgeon. – 2003. – Vol. 69, Iss. 11. – P. 957–960.

234. Topical haemostatic agents and tissue adhesives / M. V. de Carvalho, E. Marchi, M. Pantoroto [et al.]. – DOI 10.1590/s0100-69912013000100012 // Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões. – 2013. – Vol. 40, Iss. 1. – P. 66–71.

235. Topical haemostatic agents in liver surgery: do we need them? / E. A. Boonstra, I. Q. Molenaar, R. J. Porte, M. T. de Boer. – DOI 10.1111/j.1477-2574.2009.00065.x // HPB (Oxford). – 2009. – Vol. 11, Iss. 4. – P. 306–310.

236. Topical hemostasis in laparoscopic surgery / R. Vecchio, R. Catalano, F. Basile [et al.] // Il Giornale di chirurgia. – 2016. – Vol. 37, Iss. 6. – P. 266–270.

237. Tranexamic acid for bleeding prophylaxis in orthopedic surgery and trauma-standard or customized therapy? / I. Pekrul, T. Schachtner, B. Zwißler, P. Möhnle. – DOI 10.1007/s00101-021-00928-5 // Der Anaesthesist. – 2021. – Vol. 70, Iss. 6. – P. 515–521.

238. Two-layer sheet of gelatin: A new topical hemostatic agent / T. Takagi, H. Tsujimoto, H. Torii [et al.]. – DOI: 10.1016/j.asjsur.2016.09.007 // Asian journal of surgery. – 2018. – Vol. 41, Iss. 2. – P. 124–130.

239. Ultra-strong bio-glue from genetically engineered polypeptides / C. Ma, J. Sun, B. Li [et al.] // Nature communications. – 2021. – Vol. 12. – Art. 3613.

240. US Evaluation of topical hemostatic agents in post-thyroidectomy / V. Dolcetti, E. Lori, D. Fresilli [et al.]. – DOI 10.3390/cancers15092644 // Cancers (Basel). – 2023. – Vol. 15, Iss. 9. – Art. 2644.

241. Wasupalli, G. K. Polysaccharides as biomaterials / G. K. Wasupalli, D. Verma // Fundamental Biomaterials: Polymers / eds.: S. Thomas, P. Balakrishnan, M. S. Sreekala. – Sawston, Cambridge: Woodhead Publishing, 2018. – P. 37–70.

242. X-ray: an effective photon / B. McEvoy, H. Michel, D. Howell, P. Roxby. – DOI 10.2345/0899-8205-54.s3.23 // Biomedical Instrumentation & Technology. – 2020. – Vol. 54, Iss. s1. – P. 23–30.

243. Yazici, H. Laparoscopic Approach to Severe Liver Injury in a Patient With Blunt Abdominal Trauma / H. Yazici, O. Verdiyev. – DOI 10.7759/cureus.36568 // Cureus. – 2023. – Vol. 15, Iss. 3. – Art. e36568.

244. Zacharias, T. Carrier-bound fibrin sealant compared to oxidized cellulose application after liver resection / T. Zacharias, N. Ferreira. – DOI 10.1111/j.1477-2574.2012.00560.x // HPB (Oxford). – 2012. – Vol. 14, Iss. 12. – P. 839–847.

245. Zhang S. et al. Recent advances of chitosan as a hemostatic material: Hemostatic mechanism, material design and prospective application // Carbohydrate Polymers. – 2024. – T. 327. – C. 121673.

246. Zhang, Y. J. Topical and effective hemostatic medicines in the battlefield / Y. J. Zhang, B. Gao, X. W. Liu // International journal of clinical and experimental medicine. – 2015. – Vol. 8, Iss. 1. – P. 10–19.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(справочное)

РОЛЬ МЕСТНЫХ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ В
ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ОСТАНОВКЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ
В ХИРУРГИИ XXI ВЕКА (анкета)

1. Укажите Вашу специальность _____
2. Укажите Ваш стаж работы _____
3. Укажите Ваш пол _____
4. Укажите Вашу врачебную категорию _____
5. Укажите, являетесь ли Вы научно-педагогическим работником образовательной организации, НИИ _____
6. Укажите наличие ученой степени
 - ☐ Кандидат наук
 - ☐ Доктор наук
 - ☐ Ученая степень отсутствует
7. Укажите наличие ученого звания
 - ☐ Доцент
 - ☐ Профессор
 - ☐ Ученое звание отсутствует
8. Укажите занимаемую должность _____
9. Укажите уровень ЛПУ, в котором Вы работаете
 - ☐ 1 уровень (центральные районные больницы, городские, районные, участковые больницы, городские поликлиники, станции скорой медицинской помощи)
 - ☐ 2 уровень (медицинские организации, имеющие в своей структуре специализированные межмуниципальные (межрайонные) отделения и (или) центры, диспансеры, многопрофильные и специализированные больницы)
 - ☐ 3 уровень (медицинские организации, оказывающие высокотехнологичную медицинскую помощь в условиях стационара и дневного стационара)
10. Укажите, являетесь ли Вы членом профессиональной ассоциации по Вашей специальности?
 - ☐ Да
 - ☐ Нет
11. Укажите, являетесь ли Вы автором публикаций по Вашей специальности?
 - ☐ Да, уровня РИНЦ
 - ☐ Да, уровня ВАК
 - ☐ Да, уровня Scopus, WoS
 - ☐ Нет
12. Оцените по десятибалльной шкале частоту кровотечений из паренхиматозных органов при оперативном вмешательстве по поводу их травмы в ПЛАНОВОЙ ХИРУРГИИ (выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)
☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10
13. Оцените по десятибалльной шкале частоту кровотечений из паренхиматозных органов при оперативном вмешательстве по поводу их травмы в УРГЕНТНОЙ ХИРУРГИИ (выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)
☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

14. С какими видами кровотечения Вы сталкивались наиболее часто в случае оказания помощи пациенту с травмой паренхиматозных органов живота (оцените по десятибалльной шкале каждый пункт, выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)?

Артериальное

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Венозное

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Паренхиматозное

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Смешанное

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

15. Какой объем кровопотери Вы наблюдали при операциях на паренхиматозных органах по поводу их травмы (оцените по десятибалльной шкале каждый пункт, выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)

20-50 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

50-100 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

100-150 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

150-200 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

200 мл-300 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Более 300 мл

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

16. Какие доступы Вы используете во время хирургического вмешательства при подозрении на травму органов живота (оцените по десятибалльной шкале каждый пункт, выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)?

Срединная лапаротомия

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

По Курвуазье-Кохеру

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

По Федорову

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

По Рио-Бранко

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Лапароскопический способ

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Лапароскопический способ с последующей конверсией

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

17. Какие виды травм Вы встречали наиболее часто в своей практике (согласно классификации E. Moore et al.) (оцените по десятибалльной шкале каждый пункт, выберите только одну цифру, соответствующую Вашему мнению, при условии, что 1 – редко, 10 – наиболее часто)

I степень – Гематома. Подкапсульная, стабильная занимает менее 10 % поверхности. Разрыв (рана). Глубина менее 1 см без кровотечения

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

II степень – Гематома. Подкапсульная, стабильная занимает 10-50 % поверхности. Центральная, стабильная менее 2 см в диаметре. Разрыв (рана). Глубина менее 3 см, длина менее 10 см, кровотечение

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

III степень – Гематома. Подкапсульная, стабильная занимает более 50 % поверхности. Подкапсульная, нестабильная любого диаметра. Подкапсульная с разрывом и кровотечением. Центральная, стабильная более 2 см в диаметре. Центральная, нестабильная любого диаметра. Разрыв (рана). Глубина более 3 см
☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

IV степень – Гематома. Центральная гематома с разрывом и кровотечением. Разрушение паренхимы на 25-50 % доли или от 1 до 3 сегментов
☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

V степень – Разрыв (рана). Сосудистые повреждения. Разрушение паренхимы более чем на 50 % доли или более 3 сегментов. Юкстапеченочные повреждения (нижняя полая вена, воротная вена, печеночные артерии, желчные протоки)
☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

VI степень – Сосудистые повреждения. Отрыв печени

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

18. Какие способы остановки кровотечения при травме паренхиматозных органов брюшной полости Вы используете в своей практике?

19. Какие лекарственные средства, относящиеся к группе препаратов «Системные гемостатические средства», а также компоненты крови Вы используете интраоперационно и в послеоперационном периоде для остановки кровотечения из паренхиматозных органов брюшной полости?

20. Используете ли вы ГПКС в Вашей практической деятельности при операциях на паренхиматозных органах брюшной полости?

- ☐ Да
☐ Нет

21. Используют ли Ваши коллеги (в клинике, в которой работаете Вы) ГПКС в своей практической деятельности при операциях на паренхиматозных органах брюшной полости?

- ☐ Да
☐ Нет

22. Отмечали ли Вы рецидивы кровотечения во время операции после использования ГПКС?

- ☐ Да
☐ Нет

23. Отмечали ли Вы нагноение ГПКС в послеоперационном периоде с формированием абсцесса брюшной полости?

- ☐ Да
☐ Нет

24. Отмечались ли в Вашей практике клинические случаи, когда требовалось выполнение релапаротомии по поводу рецидивного кровотечения в послеоперационном периоде?

- ☐ Да
☐ Нет

25. Отмечались ли в Вашей практике клинические случаи травм паренхиматозных органов живота, заканчивающиеся летальным исходом?

- ☐ Да
☐ Нет

26. Какие гемостатические средства Вы используете?

27. В каком случае, по Вашему мнению, предпочтительнее использовать ГПКС в качестве ОСНОВНОГО метода остановки кровотечения?

28. В каком случае, по Вашему мнению, предпочтительнее использовать ГПКС в качестве ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО метода остановки кровотечения?

29. По Вашему мнению, имеется ли смысл в одновременном использовании ГПКС и традиционного ушивания паренхиматозного органа?

- ☐ Да
- ☐ Нет

30. Какими свойствами, по Вашему мнению, должно обладать идеальное гемостатическое средство?

- ☐ Удобство при использовании
- ☐ Высокая пористость
- ☐ Высокая прочность
- ☐ Высокая адгезивность
- ☐ Биологическая инертность

31. В течение какого времени, по Вашему мнению, гемостатическое средство должно оказывать кровоостанавливающий эффект?

32. Является ли важным эксплуатационным свойством гемостатического средства возможность его моделирования (выкраивания соответственно форме и размерам раны) интраоперационно?

- ☐ Да
- ☐ Нет

33. По Вашему мнению, является ли важным критерием выбора стоимость гемостатического средства?

- ☐ Да
- ☐ Нет

34. Какими размерами (длина, ширина, толщина) по вашему мнению, должно обладать универсальное ГПКС?

- ☐ 90х90х7 мм
- ☐ 97х97х7 мм
- ☐ 50х50х7 мм
- ☐ 25х30х5 мм

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(справочное)

ИНФОРМИРОВАННОЕ ДОБРОВОЛЬНОЕ СОГЛАСИЕ
на взятие крови для проведения коагулологических исследований в лаборатории
экспериментальной хирургии и онкологии
научно-исследовательского института экспериментальной медицины
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, г. Курск, ул. К.Маркса, д. 3

Я, _____
(Ф.И.О. гражданина)

М/Ж « ____ » _____ г. рождения, зарегистрированный по адресу:

(адрес места жительства гражданина)

согласен принять добровольное участие (однократно/многократно) в экспериментальном коагулологическом исследовании на базе лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии научно-исследовательского института экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, целью которого является изучение гемостатических свойств кровоостанавливающих средств. В рамках исследования согласен выступить в роли донора венозной крови, взятой из кубитальной вены левой руки.

В доступной для меня форме мне разъяснены цели, методы проводимых исследований, связанный с ними риск, возможные варианты медицинских вмешательств, последствия, в том числе вероятность развития осложнений, а также предварительные результаты оказания медицинской помощи. Мне разъяснено, что я имею право отказаться от проведения данной процедуры или потребовать ее прекращения.

Принимаете ли вы какие-либо лекарственные препараты на данный момент? Если да, то какие?

☐ Да ☐ Нет _____

Имеются ли у вас какие-либо хронические заболевания? Если да, то какие?

☐ Да ☐ Нет _____

(подпись) (Ф.И.О. гражданина)

(подпись) (Ф.И.О. медицинского работника / сотрудника лаборатории)

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(справочное)

АКТЫ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИНТЕЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ, ПОЛУЧЕННОЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава

России

Профессор В.А. Лазаренко



2025 г.

АКТ

о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
научно-исследовательскую работу кафедры оперативной хирургии и
топографической анатомии
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

1. **Автор внедрения:** Липатов Вячеслав Александрович, Денисов Артём Александрович, Лазаренко Сергей Викторович, Грехнева Елена Владимировна, Северинов Дмитрий Андреевич, Кондакова Полина Денисовна.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2023123284 от 11 марта 2025 г.
3. **Название объекта внедрения:** Губка кровоостанавливающая комбинированная.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России
5. **Дата начала отсчета внедрения:** 16.08.2024.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** применение губки кровоостанавливающей комбинированной на модели резекции левой доли печени крыс статистически значимо превосходит используемые в клинике местные гемостатические средства «Материал гемостатический рассасывающийся Ethicon Surgicel Fibrillar» и «Гемостатическое губчатое средство «Тахокомб»» по времени остановки кровотечения и объёму кровопотери, что несомненно, важно, принимая во внимание специфику паренхиматозного кровотечения и структурных особенностей печени.

Зав. каф. оперативной хирургии и
топографической анатомии
д.м.н., профессор

 А.И. Бежин

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

 С.В. Лазаренко

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава

России

Профессор В.А. Лазаренко



« 12 » 23 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
научно-исследовательскую работу НИИ экспериментальной медицины
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

1. **Автор внедрения:** Липатов Вячеслав Александрович, Денисов Артём Александрович, Лазаренко Сергей Викторович, Грехнева Елена Владимировна, Северинов Дмитрий Андреевич, Кондакова Полина Денисовна.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2023123284 от 11 марта 2025 г.
3. **Название объекта внедрения:** Губка кровоостанавливающая комбинированная.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России
5. **Дата начала отсчета внедрения:** 14.08.2024.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** применение губки кровоостанавливающей комбинированной на модели резекции левой доли печени крыс статистически значимо превосходит используемые в клинике местные гемостатические средства «Материал гемостатический рассасывающийся Ethicon Surgicel Fibrillar» и «Гемостатическое губчатое средство «Тахокомб»» по времени остановки кровотечения и объёму кровопотери, что несомненно, важно, принимая во внимание специфику паренхиматозного кровотечения и структурных особенностей печени.

И.о. директора НИИ ЭМ
к.м.н., доцент

 Е.С. Мишина

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

 С.В. Лазаренко

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ МО «МОЦОМД»

д.м.н. Мельник Т.Н.



АКТ № 2

о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
клиническую работу отделения хирургии новорожденных ГБУЗ МО «МОЦОМД»

1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Нетяга Андрей Алексеевич, Лазаренко Сергей Викторович, Северинов Дмитрий Андреевич, Сотников Константин Александрович.

2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2700165 от 13 сентября 2019 г.

3. **Название объекта внедрения:** Способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro*.

4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной центр охраны материнства и детства»

5. **Дата начала отсчета внедрения:** 21.08.2024 г.

6. **Заключение об эффективности внедрения:** новый способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови *in vitro*, обладает технической простотой, точностью, объективностью и возможностью использования в скрининговых исследованиях, а также позволяет проводить исследования в отдаленные сроки от момента взятия крови.

Заведующий отделением
хирургии новорожденных, к.м.н.

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

М. Г. Рехвиашвили

С.В. Лазаренко

УТВЕРЖДАЮ
 Главный врач
 ГБУЗ МО «МОЦОМД»
 д.м.н. Мельник Т.Н.



«13» 11 2024 г.

АКТ № 4
о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
клиническую работу отделения хирургии новорожденных ГБУЗ МО «МОЦОМД»

1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Гаврилюк Василий Петрович, Северинов Дмитрий Андреевич, Долженков Михаил Андреевич, Лазаренко Сергей Викторович.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 042177 от 20 января 2021 г.
3. **Название объекта внедрения:** Способ лапароскопического моделирования рваной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной центр охраны материнства и детства»
5. **Дата начала отсчета внедрения:** 16.08.2024 г.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** техническим результатом изобретения является разработка лапароскопического способа моделирования рваной раны печени для исследования гемостатических материалов, позволяющего оценить эффективность остановки кровотечения.

Заведующий отделением
 хирургии новорожденных, к.м.н.

Ответственный за внедрение:
 Доцент кафедры урологии

 М. Г. Рехвиашвили
 С.В. Лазаренко

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ МО «МОЦОМД»
д.м.н. Мельник Г.Н.



«17» 12 2024 г.

АКТ № 5
о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
клиническую работу отделения хирургии новорожденных ГБУЗ МО «МОЦОМД»

1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Лазаренко Сергей Викторович, Северинов Дмитрий Андреевич, Сотников Константин Александрович.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2709517 от 18 декабря 2019 г.
3. **Название объекта внедрения:** Способ сравнительного исследования эффективности локальных кровоостанавливающих средств в эксперименте in vitro.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной центр охраны материнства и детства»
5. **Дата начала отсчета внедрения:** 07.08.2024 г.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** изобретение обеспечивает повышение точности и объективизацию исследований при разработке экспериментальных образцов гемостатических средств локального действия.

Заведующий отделением
хирургии новорожденных, к.м.н.

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

 М. Г. Рехвиашвили
 С.В. Лазаренко

УТВЕРЖДАЮ
Зав кафедрой детской хирургии
НОИ клинической медицины им
Н.А.Семашко
ФГБОУ ВО Российский Университет
Медицины
д.м.н., профессор
Поддубный И.В.

«21» 10 2024 г.

АКТ № 5

о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
научно-исследовательскую работу кафедры детской хирургии НОИ клинической
медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины

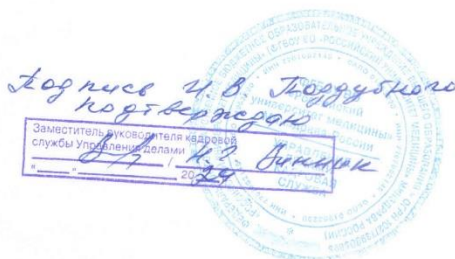
1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Лазаренко Сергей Викторович, Северинов Дмитрий Андреевич, Сотников Константин Александрович.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2709517 от 18 декабря 2019 г.
3. **Название объекта внедрения:** Способ сравнительного исследования эффективности локальных кровоостанавливающих средств в эксперименте in vitro.
1. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** кафедра детской хирургии НОИ клинической медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины
4. **Дата начала отсчета внедрения:** 07.08.2024 г.
5. **Заключение об эффективности внедрения:** изобретение обеспечивает повышение точности и объективизацию исследований при разработке экспериментальных образцов гемостатических средств локального действия.

Зав.каф.детской хирургии,проф., д.м.н.

 И.В.Поддубный

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

 С.В. Лазаренко



УТВЕРЖДАЮ
Зав кафедрой детской хирургии
НОИ клинической медицины им
Н.А.Семашко
ФГБОУ ВО Российский Университет
Медицины
д.м.н., профессор
Поддубный И.В.
«16» 10 2024 г.

АКТ № 4
о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
научно-исследовательскую работу кафедры детской хирургии НОИ клинической
медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины

1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Нетяга Андрей Алексеевич, Лазаренко Сергей Викторович, Северинов Дмитрий Андреевич, Сотников Константин Александрович.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 2700165 от 13 сентября 2019 г.
3. **Название объекта внедрения:** Способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови in vitro.
1. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** кафедра детской хирургии НОИ клинической медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины
4. **Дата начала отсчета внедрения:** 21.08.2024 г.
5. **Заключение об эффективности внедрения:** новый способ сравнительного изучения влияния хирургических материалов на процесс образования сгустка крови in vitro, обладает технической простотой, точностью, объективностью и возможностью использования в скрининговых исследованиях, а также позволяет проводить исследования в отдаленные сроки от момента взятия крови.

Зав.каф. детской хирургии ,профессор, д.м.н.

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

И.В.Поддубный
С.В. Лазаренко



УТВЕРЖДАЮ
Зав кафедрой детской хирургии
НОИ клинической медицины им
Н.А.Семашко
ФГБОУ ВО Российский Университет
Медицины
д.м.н., профессор
Поддубный И.В.
«11» 10 2024 г.

АКТ № 3
о внедрении результатов интеллектуальной собственности в
научно-исследовательскую работу кафедры детской хирургии НОИ клинической
медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины

1. **Авторы внедрения:** Лазаренко Виктор Анатольевич, Липатов Вячеслав Александрович, Гаврилюк Василий Петрович, Северинов Дмитрий Андреевич, Долженков Михаил Андреевич, Лазаренко Сергей Викторович.
2. **Источник предложения:** патент на изобретение РФ № 042177 от 20 января 2021 г.
3. **Название объекта внедрения:** Способ лапароскопического моделирования рванной раны печени у лабораторных животных для исследования гемостатических материалов.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** кафедра детской хирургии НОИ клинической медицины им Н.А.Семашко ФГБОУ ВО Российский Университет Медицины
5. **Дата начала отсчета внедрения:** 16.08.2024 г.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** техническим результатом изобретения является разработка лапароскопического способа моделирования рванной раны печени для исследования гемостатических материалов, позволяющего оценить эффективность остановки кровотечения.

Зав.каф.детской хирургии,проф., д.м.н.

Ответственный за внедрение:
Доцент кафедры урологии

И.В.Поддубный
С.В. Лазаренко

Подпись И.В. Поддубного
подтверждаю
Заместитель руководителя кадровой
службы управления делами
Н.Т. Винник
2024