

УДК 616-005.1-08:615.2735

М.З. КАУЛАМБАЕВА, А.С. ТОЛЕУБЕКОВА, М.Б. ОЗБЕКОВ, Н.Н. АХМЕТСАДЫКОВ

ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», г. Алматы, Казахстан

ОЦЕНКА ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОКРЫТИЯ «BIOTANGISH® FT» ПРИ КАПИЛЛЯРНО-ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ

Кауламбаева М.З.

В современной хирургии вопрос остановки паренхиматозных кровотечений, которые сопровождаются существенной кровопотерей и высокой интенсивностью кровотечения при травмах, плановых и экстренных оперативных вмешательствах, остается сложным и до конца нерешенным.

В данной научной статье представлены результаты сравнительной оценки гемостатических свойств нового раневого покрытия «Biotangish®FT», разработанного в рамках подпроекта «Биопокрытия на основе природных полимеров для лечения ожоговых и хирургических ран».

Целью исследования является экспериментальная оценка гемостатического свойства раневого покрытия «Biotangish®FT».

Материал и методы. Эксперименты *in vivo* выполнены на кроликах. Исследование проводили с помощью модели капиллярно-паренхиматозного кровотечения из печени. Гистологические образцы ткани печени окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты и обсуждение. Применение раневого покрытия «Biotangish®FT» значительно сокращает время кровопотери, что препятствует развитию у лабораторных животных пост-геморрагической анемии и способствует нормальному функционированию печеночной ткани в ранний послеоперационный период.

Ключевые слова: гемостатическая активность, кровотечение, коллаген, гиалуроновая кислота, фибриноген, тромбин.

Цель исследования – сравнительное изучение гемостатической активности покрытия «Biotangish®FT». Работа выполнена по гранту проекта «Коммерциализация технологий» Всемирного банка и МОН РК.

В современной хирургии вопрос остановки паренхиматозных кровотечений, которые сопровождаются существенной кровопотерей и высокой интенсивностью кровотечения при травмах, плановых и экстренных оперативных вмешательствах, остается сложным и до конца нерешенным [1, 2, 3, 4]. Существующее большое количество методов остановки капиллярно-паренхиматозного кровотечения не в полной мере отвечает требованиям современной медицины [3]. Исходя из вышеизложенного, вопрос о поиске и разработке новых методов для остановки паренхиматозных кровотечений остается одним из актуальных [5, 6, 8, 12].

Одним из наиболее эффективных и щадящих методов для остановки паренхиматозного кровотечения является применение раневых покрытий на основе природных полимеров, которые сочетают в себе многие свойства синтетических полимеров (прочность, эластичность, способность формироваться в различные структуры и др.), а также способность к биодegradации и образованию обратимых комплексов с лекарственными средствами, биосовместимость, отсутствие токсичности и канцерогенности [7, 9-12]. К таким природным полимерам, обла-

дающим данными свойствами, можно отнести коллаген, гиалуроновую кислоту.

На сегодняшний день в нашей стране отсутствует промышленное производство гемостатических средств, удовлетворяющих потребности практического здравоохранения. Существующие же импортные препараты мало доступны из-за их дороговизны.

Вышеизложенное определяет необходимость разработки нового гемостатического препарата, обладающего гемостатическим и ранозаживляющим эффектами. В рамках подпроекта «Биопокрытия на основе природных полимеров для лечения ожоговых и хирургических ран» была разработана технология раневого покрытия «Biotangish®FT».

Заявленное средство состоит из трех активных компонентов:

- коллаген, ускоряющий регенерацию тканей;
- гиалуроновая кислота, обладающая противовоспалительными свойствами и поддерживающая водный баланс в ране;
- фибриноген и тромбин, усиливающие гемостатические и ранозаживляющие свойства покрытия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили с помощью модели капиллярно-паренхиматозного кровотечения. Эксперимент проводили на здоровых половозрелых кроликах массой 2,5-3 кг. Все животные содержались в одинаковых

Контакты: Кауламбаева Маржан Зakanовна, канд. биол. наук, зав. лаборатории «клеточной биотехнологии» ТОО НПП «Антиген», г. Алматы. Тел.: +7 707 432 57 63, e-mail: marzan61z@mail.ru

Contacts: Marzhan Zakanovna Kaulambayeva, Candidate of Biol. Sciences, Head laboratory "Cell Biotechnology" Research and production CO Antigen LTD, Almaty c. Ph.: +7 707 432 57 63, e-mail: marzan61z@mail.ru

условиях на стандартном питьевом и пищевом рационе. Животные были разделены на 3 группы: две испытываемые и одну контрольную, по 3 животных в каждой группе. В момент нанесения ран животные находились под наркозом 2% раствора рометара, также проводилась местная анестезия с применением лидокаина. После соответствующей обработки операционного поля моделировалась стандартная рана на печени. Для этого выполняли краевую резекцию органа отступом 1 см от края и рассечение на глубину 0,5 см. Для остановки кровотечения из ран печени использовали изучаемые покрытия. На раны животных первой группы накладывали препарат Тахокомб, на раны второй группы накладывали «Biotangish® FT». Контрольная группа, где раны животных без лечения. Исследуемые препараты наносили разово.

Длительность кровотечения регистрировали секундомером. Полученные данные обработали статистически с вычислением средних величин.

Всех животных выводили из эксперимента на 14-е сутки. В ходе наблюдения все животные были живы. Для дальнейших исследований подопытных животных выводили из опыта методом передозировки средства для наркоза. Средним разрезом вскрывали брюшную полость и оценивали выраженность заживления с применением визуально-описательного метода. В каждом случае из трупа животного был извлечен участок печени, на которую была нанесена рана, далее все фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина для дальнейших гистологических исследований. При вскрытии брюшной полости на месте нанесения стандартной раны на печени во всех случаях наблюдалось формирование фиброзной пленки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные сравнительного исследования времени остановки кровотечения в условиях применения аппликационных образцов показали, что объект испытания «Biotangish® FT» обладает заявленной гемостатической активностью. Полученные величины кровопотери при остановке кровотечения из печени представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Масса кровопотери и длительность кровотечения из раны печени

№	Препарат	Объем кровопотери (г)	Длительность кровотечения (сек)
1	Тахокомб	3,106±0,3	185,8±20,3
2	«Biotangish® FT»	3,413±0,5	226,3±37,9
3	Контроль	4,167±0,1	391,7±21,8

Согласно данным, приведенным в таблице 1, оба исследуемых препарата по отношению к контролю уменьшают кровопотерю. При нанесении покрытия на рану высвобождаются факторы свертывания, содержащиеся в покрытии, приводя к плотному контакту между коллагеном и раневой поверхностью. Тромбин способствует превращению фибриногена в фибрин, который полимеризуется в нити фибрина, образуя сгусток.

Минимальные показатели кровопотери отмечены при

применении препарата сравнения Тахокомб, использование которого сокращает время кровотечения на 52,6% и массу кровопотери – на 25,5% относительно контрольной группы.

Исследуемое изделие «Biotangish® FT» сокращает время кровотечения на 42,2%, массу кровопотери – на 18,1%. Таким образом, согласно полученным показателям мы видим наличие у испытуемого образца гемостатической активности, хотя и уступающей препарату сравнения.

Результаты гистологических исследований

В контрольной группе на поверхности печени определяются фибриновые наложения, пропитанные полиморфно-ядерными лейкоцитами. Местами встречаются участки обширных кровоизлияний с фокусами организуемых тромботических масс и небольшими участками лизированных эритроцитов. В подлежащих к раневой поверхности печени ткани определяется смешанного характера диффузная клеточная инфильтрация, представленная в основном нейтрофилами, лимфоцитами с единичными плазматическими клетками, гепатоциты в данной области с умеренными дистрофическими изменениями. В центральных зонах портальные вены расширенные полнокровные, в некоторых полях зрения вокруг желчных протоков определяется лимфоидная умеренная инфильтрация, желчные протоки выстланы высоким цилиндрическим железистым эпителием. Портальные тракты без особенности. Гепатоциты среднего размера с четкими расположенными центрально ядрами, хроматин ядер однородный, расположен диффузно.

Цитоплазма светло-розового цвета однородная (рис. 1, 2).

В группе с применением гемостатического средства «Тахокомб» – на поверхности ткани печени определяется прослойка гомогенной, бесструктурной, розового цвета некротической ткани с участками наложения организуемого фибрина, местами определяется очаговая лейкоцитарная скудная инфильтрация.

Некротические изменения умеренной степени выраженности, в которой видны фокусы организации. Вал из грануляционной ткани широкий с обильной круглоклеточной инфильтрацией. Умеренное разрастание соединительной ткани в печени (рис. 3, 4).

В группе с применением покрытия «Biotangish® FT» в подлежащей ткани печени минимальные явления паренхиматозной белковой дистрофии, слабовыраженный межклеточный отек. Некротические изменения легкой степени выраженности. Вал из грануляционной ткани узкий с умеренной круглоклеточной инфильтрацией. Слабое разрастание соединительной ткани. Легкие изменения в подлежащей ткани печени (рис. 5, 6).

Анализируя данные морфологического исследования, следует, что регенераторные процессы более высокие в третьей группе (Biotangish® FT), менее выраженная круглоклеточная инфильтрация, что в разы снижает повреждающий фактор подлежащих гепатоцитов, а небольшое наличие фибробластов и фиброцитов уменьшает продукцию элементов, образующих соединительную ткань.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что

обеспечение гемостаза как с помощью «Biotangish® FT», так и «Тахокомб», в условиях экспериментальной травмы печени препятствует генерализации нарушений функций печени и способствует репарации повреждённой ткани в ранний послеоперационный период.

ВЫВОД

Новое композиционное гемостатическое средство «Biotangish® FT» в экспериментах *in vivo* обладает выраженными сгусткообразующими свойствами, что идентично зарубежному препарату-аналогу «Тахокомб».

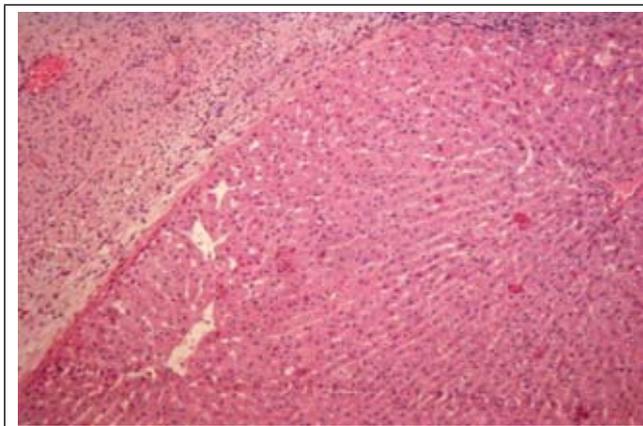


Рисунок 1 – Контрольная группа, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x10

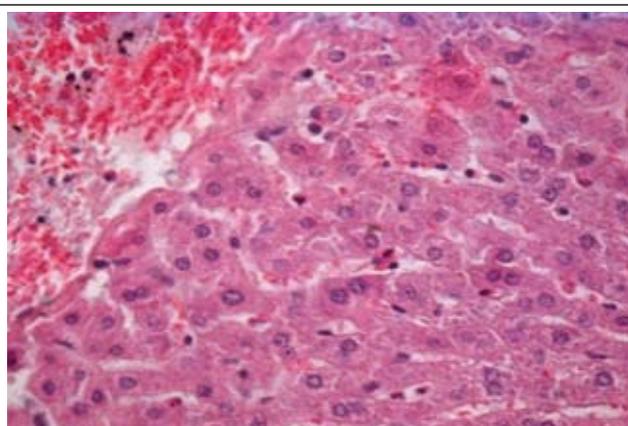


Рисунок 2 – Контрольная группа, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 40x10

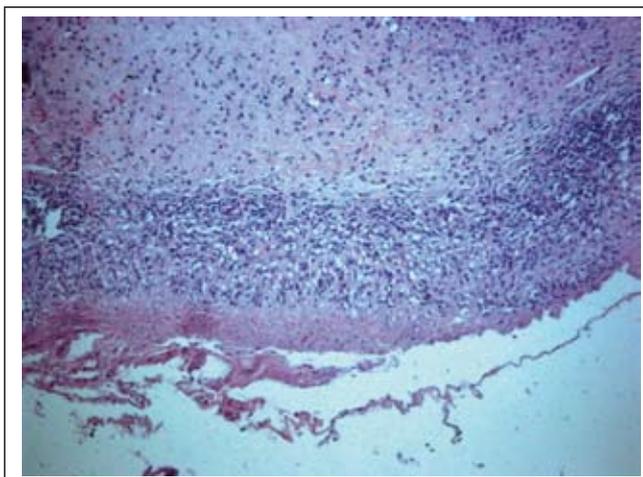


Рисунок 3 – Группа с применением препарата «Тахокомб», окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x10

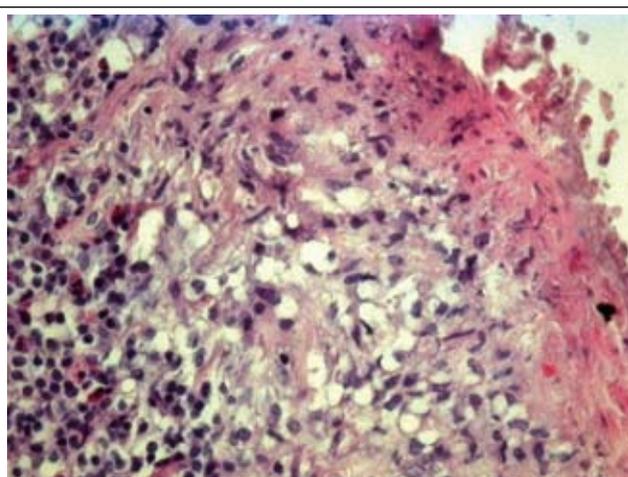


Рисунок 4 – Группа с применением препарата «Тахокомб», окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x10

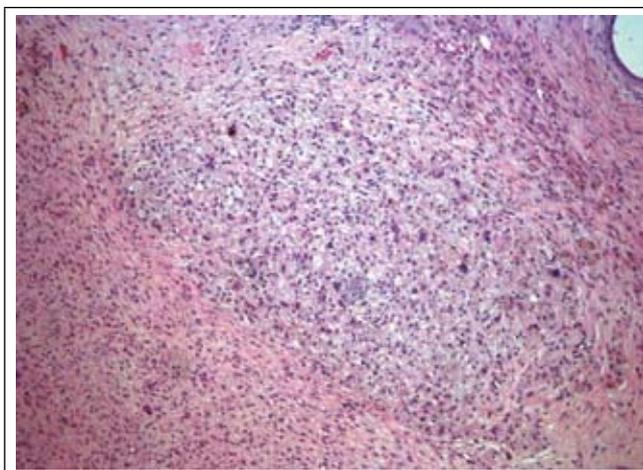


Рисунок 5 – Группа с применением препарата «Biotangish® FT», окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x10

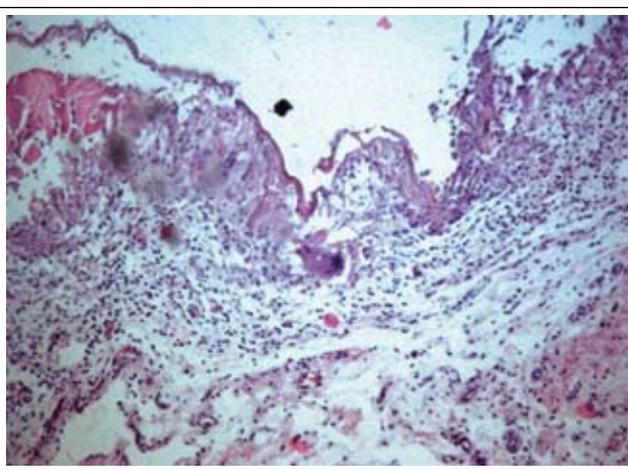


Рисунок 6 – Группа с применением препарата «Biotangish® FT», окраска гематоксилин-эозином, увеличение 10x10

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Белозерская Г.Г., Макаров В.А., Абоянц Р.К. и др. Аппликационное средство гемостаза при капиллярно-паренхиматозном кровотечении // Хирургия. – 2004. – №9. – С. 55-59
- 2 Диагностика и лечение ранений / Под редакцией Ю.Г. Шапошниковой. – М.: Медицина, 1984. – 340 с.
- 3 Гаин Ю.М. Неотложная хирургия органов брюшной полости. – Минск, 2004. – 298 с.
- 4 Владимирова Е.С., Абакумов М.М. Хирургическая тактика при закрытых повреждениях печени // Хирургия. – 1997. – №3. – С. 53-57
- 5 Горский В.А., Шуркалин Б.К., Леоненко И.В. Применение Тахокомба в абдоминальной хирургии. – М.: Изд-во «Атмосфера», 2003. – 163 с.
- 6 Ермолов А.С., Абакумов М.М., Владимирова Е.С. Травма печени. – М.: Медицина, 2003. – 192 с.
- 7 Gram H.B., Nathan R.C., Stafford F.J. et al. Fibrin glue adhesives hemostasis in patients with coagulation disorders // Arch. Surg. – 1989. – Vol. 124, N 3. – P. 385-387
- 8 Литвин А.А., Цыбуляк Г.Н. Местный гемостаз в хирургии повреждений печени и селезенки // Хирургия. – 2000. – №4. – С. 74-76
- 9 Browder I.W., Litwin M.S. Use of absorbable collagen for hemostasis in general surgical patients // Am. Surg. – 1986. – Vol. 52, N 9. – P. 492-494
- 10 DeLustro F., Dasch J., Keefe J., Ellingsworth L. Immune responses to allogeneic and xenogeneic implants of collagen and collagen derivatives // Clin. Orthop. – 1990. – Vol. 260. – P. 263-279
- 11 Pupka A., Chudoba P., Barc P. et al. Intraoperative hemostasis during kidney transplantation and the use collagen mesh dressing covered by fibrin glue (TachoComb) // Polim. Med. – 2003. – Vol. 33, N 3. – P. 27-32
- 12 Майстренко А.Н., Бежин А.И., Липатов В.А., Нетяга А.А., Ишунина Т.А., Чижиков Г.М. Сравнительная оценка гемостатической активности новых аппликационных средств при травмах и операциях на печени и селезенке в эксперименте // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – №2. – С. 19-26

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**М.З. ҚАУЛАМБАЕВА, А.С. ТӨЛЕУБЕКОВА,
М.Б. ӨЗБЕКОВ, Н.Н. АХМЕТСАДЫҚОВ**

*ЖШС «Антиген» Ғылыми-Әндірістік Кәсіпорны,
Алматы қ., Қазақстан*

«BIOTANGISH® FT» ТӨСЕМЕСІНІҢ КАПИЛЛЯРЛЫҚ-ПАРЕНХИМАТОЗДЫ ҚАН АҒУДА ГЕМОСТАТИКАЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН БАҒАЛАУ

Қазіргі кезде хирургия саласында жарақат алу немесе жоспарлы және шұғыл хирургиялық араласу кезінде көп мөлшерде қан жоғалтумен сипатталатын паренхиматозды қан

ағуды тоқтату шешілмеген күрделі мәселелердің бірі болып табылады.

Бұл ғылыми мақалада «Күйік және ота жарақаттарын емдеуге арналған табиғи полимерлер негізіндегі биожабындылар» жобасы аясында жаңадан шығарылған «Biotangish®FT» атты жараны таңатын жабындының гемостатикалық қасиеттерінің салыстырмалы түрде зерттеу нәтижелері ұсынылған.

Зерттеу мақсаты. Бұл «Biotangish®FT» жара таңғышының гемостатикалық қасиеттерін эксперимент жүзінде бағалау болып табылады.

Материал және әдістері. Экспериментер in vivo жағдайында қояндарға жасалды. Зерттеу капиллярлы-паренхиматозды қан ағу үлгісін пайдалана отырып жүргізілді. Мөлшертерді алу секундомер көмегімен жүзеге асырылды. Салыстырмалы аналогы ретінде «Тахокомб®» (Австрияда шығарылатын-Tachocomb®) гемостатикалық сорғыш пайдаланылды.

Гемостатикалық заттардың имплантациясына тіндердің әсері гистологиялық және микроскопиялық жолдармен анықталды.

Нәтижелері және талқылауы. «Biotangish®FT» атты жара таңғышын пайдалану қан жоғалту уақытын айтарлықтай қысқартып, зертханалық жануарларда анемияның пайда болуына жол бермейтіні, сонымен қатар отадан кейінгі уақытта бауыр тіндерінің қалыпты жұмыс істеуіне мүмкіндік туғызады.

Қорытынды. In vivo эксперименттерінде композициясы жаңа гемостатикалық «Biotangish®FT» жабындысы шет ел аналогы «Тахокомб» препаратына ұқсас қан ұйыту қабілетін айқын көрсетеді.

Негізгі сөздер: гемостатикалық белсенділік, қан ағу, коллаген, гиалурон қышқылы, фибриноген, тромбин.

SUMMARY

**M.Z. KAULAMBAYEVA, A.S. TOLEUBEKOVA,
M.B. OZBEKOV, N.N. AKHMETSA DYKOV**

*Research and production CO Antigen LTD,
Almaty c., Kazakstan*

HEMOSTATIC ACTIVITY ASSESSMENT OF THE «BIOTANGISH® FT» COATING AT THE CAPILLARY-PARENCHYMAL BLEEDING

In today's issue of stop parenchymal bleedingsurgery, which are accompanied by significant blood loss and high intensity of bleeding with injuries, planned and emergency surgical interventions is complex and unresolved until the end.

This research paper presents the results of a comparative evaluation of hemostatic properties of the new wound covering «Biotangish®FT» developed by the subproject "Biocovers based on natural polymers for the treatment of burns and surgical wounds."

The aim of this study is the experimental evaluation of the hemostatic properties of the wound covering «Biotangish®FT».

Material and methods. The experiments were performed in vivo on rabbits. The study was conducted using a model capillary – hepatic parenchymal bleeding. Histological samples of liver tissue were stained for hematoxylin and eosin.

Results. The use of wound covering «Biotangish®FT» significantly reduces blood loss, which prevents the development of laboratory animals post-hemorrhagic anemia and promotes normal functioning liver tissue in the early postoperative period.

Key word: hemostatic activity, bleeding, collagen, hyaluronic acid, fibrinogen, thrombin.

Для ссылки: Кауламбаева М.З., Төлеубекова А.С., Озбеков М.Б., Ахметсадықов Н.Н. Оценка гемостатической активности покрытия «Biotangish® FT» при капиллярно-паренхиматозных кровотечениях // J. Medicine (Almaty). – 2016. – No 1 (163). – P. 40-43

Статья поступила в редакцию 09.12.2015 г.

Статья принята в печать 14.01.2016 г.