

## **ВЛИЯНИЕ АЛЮСТАТА НА СОСТОЯНИЕ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Тагиева Фарида Рауфовна**

*Кандидат медицинских наук, ассистент  
Белорусский государственный медицинский университет  
Беларусь, Минск,  
faridatagieva70@gmail.com*

**Гапанович Владимир Николаевич**

*Доктор медицинских наук, профессор,  
директор РУП «Научно-практический центр ЛОТИОС»  
lotios@yandex.by*

**Мельнова Наталья Ивановна**

*Кандидат биологических наук, доцент,  
главный специалист УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»  
nimelnova@gmail.com*

*Свертывающая система крови или система гемостаза – одна из основных функциональных систем, способствующих сохранению постоянства внутренней среды организма. Основная ее функция заключается в предупреждении и остановке кровотечения, обеспечении восстановления целостности сосудистой стенки, поддержании кровотока и объема циркулирующей крови, сохранении ее физических и биологических свойств. При воздействии на организм человека и животных различных экстремальных факторов, включая физическое повреждение, воспалительные процессы и др., нарушается баланс между про- и антикоагулянтной (профибринолитической) системами, что проявляется гипер- или гипokoагуляционными изменениями в свертывании крови [2,3].*

**Ключевые слова:** *свертывающая система крови; остановка кровотечения; повреждения сосудов; система гемостаза; экспериментальные животные.*

## **INFLUENCE OF ALUSTAT ON THE CONDITION OF A BLOOD COAGULATION SYSTEM OF THE EXPERIMENTAL ANIMAL**

**Tagieva F.R.**

*PhD, Assistant  
Belarusian State Medical University  
Belarus, Minsk  
faridatagieva70@gmail.com*

**Gapanovich V.N.**

*DD, Professor,*

*Director of RUE «Scientific and Practical Center LOTIOS»*

*lotios@yandex.by*

**Melnova N.I.**

*PhD in Biological Sciences, Assistant professor,*

*Chief Specialist of the UE «Center for Expertise and Testing in Healthcare»*

*nimelnova@gmail.com*

*The blood coagulation system or hemostasis system is one of the main functional systems that contribute to maintaining the constancy of the internal environment of the body. Its main function is to prevent and stop bleeding, ensure restoration of the integrity of the vascular wall, maintain blood flow and the volume of circulating blood, preserve its physical and biological properties. When exposed to various extreme factors, including physical damage, inflammatory processes, etc., on the human and animal organism, the balance between the pro- and anticoagulant (profibrinolytic) systems is violated, which is manifested by hyper- or hypocoagulation changes in blood coagulation [2,3].*

**Key words:** *blood coagulation system; stopping bleeding; damage to blood vessels; hemostatic system; experimental animals.*

**Введение.** Данный раздел посвящен изучению влияния разработанного гемостатического средства для местного применения Алюстат [1] на систему гемостаза кроликов при его использовании в качестве гемостатического пособия на фоне кровотечения при моделируемом десневом разрезе. В ходе исследования изучались в том числе основные показатели вторичного (плазменного, факторного) гемостаза, которые позволяли судить о системных эффектах последствия нового лекарственного средства.

**Цель исследования:** провести анализ системного влияния на ряд параметров сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза в условиях эксперимента на биологической модели животных.

**Объекты и методы.** Объектом исследования явились гемостатическое средство местного действия Алюстат [1]; средство сравнения Капрамин («ВладМива», Российская Федерация); кролики, (n = 66); кровь лабораторных животных. Предметом исследования явились медико-биологические свойства гемостатического средства местного действия Алюстат. С учетом предъявляемых требований к объему доклинических испытаний безопасности разрабатываемых лекарственных средств сравнительное изучение целевых гемостатических свойств Алюстата при развивающемся на фоне моделируемого десневого разреза кровотечении проведено в ходе экспериментов на кроликах со средством сравнения Капрамин. Все животные были разделены на серии – контрольную (n = 22), кровотечение в которой прекращалось самопроизвольно, без применения гемостатических средств; сравнения (n = 22), животным которой

для достижения гемостаза применяли коммерческое гемостатическое средство Капрамин («ВладМива», Российская Федерация), и опытную ( $n = 22$ ), в которой исследовали гемостатические свойства наносимого на раневую поверхность Алюстата [1, 3, 5]. Животные находились под ежедневным наблюдением в течение 30 суток после операции с оценкой общего состояния (внешний вид, поведенческие реакции, отношения к еде). Выключение из эксперимента проводили в зависимости от его этапа: на 1; 3-4; 7-8; 10-11; 14-15 и 30 сутки с обязательным взятием крови в том числе для оценки параметров первичного и вторичного гемостаза. Кровь у животных брали в пластиковые (полистерол) центрифужные пробирки из краевой вены уха (после обработки поверхности кожи 70 % этиловым спиртом и высушивания). В качестве антикоагулянтов использовали: для гематологического анализа – 7,5 % ЭДТА трикальциевую соль (из расчета 20 мкл на 1 мл крови); для биохимического анализа – 0,4 % раствор гепарина (из расчета, что 1 мг гепарина предупреждает свертывание 5 мл крови); для исследования системы гемостаза – 3,8 % раствор натрия цитрата (в соотношении 1:9). В зависимости от цели исследования при стандартизованных режимах центрифугирования получали компоненты крови – плазму как богатую тромбоцитами, так и бестромбоцитную. При невозможности немедленного использования полученную плазму замораживали и хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  не более двух недель. Для оценки системы факторного гемостаза использовались методы лабораторной диагностики, позволяющие характеризовать вторичный гемостаз, включая состояние каждой фазы свертывающей системы крови.

Систему гемокоагуляции оценивали следующими методами, позволяющими отразить состояние каждой фазы плазменного звена гемостаза: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, с), протромбиновое время (ПВ, с), тромбиновое время (ТВ, с), уровень фибриногена (Ф, г/л), эуглобулиновый фибринолиз (ЭФ, мин) [2, 3, 5].

**Результаты** изучения плазменного (факторного, вторичного) звена системы гемостаза приведены в таблице 1.

Как показало исследование, после десневого разреза у животных контрольной, опытной и серии сравнения на 1 сутки после операции отмечалось повышение уровня фибриногена по сравнению с исходными данными на 27,0 %, 40,0 % и 44,0 % соответственно, что, по-видимому, могло быть связано с развитием воспалительной реакции на травму.

Таблица 1 – Динамика показателей плазменного звена системы гемостаза кроликов при исследовании фармакодинамики Алюстата

Изучаемый показатель	Условия эксперимента						
	исходные данные	1 сутки после операции	3-4 сутки после операции	7-8 сутки после операции	10-11 сутки после операции	14-15 сутки после -операции	30 сутки после операции
Контрольная серия							
АЧТВ, с	26,7±1,6	24,0±2,0	23,1±1,4	22,2±1,0	22,4±1,1	22,0±1,1	24,7±0,6
ПВ, с	8,3±0,2	7,9±0,2	7,9±0,3	8,1±0,2	8,3±0,2	8,6±0,2	6,0±1,2*
ТВ, с	17,4±0,5	16,5±0,5	17,4±0,8	16,7±0,5	18,5±0,7	14,1±0,3*	15,6±0,7
Фибриноген, г/л	2,6±0,2	3,3±0,2*	2,9±0,2	2,6±0,1	2,5±0,2	3,2±0,3	3,0±0,3
ЭФ, мин	137,7±5,4	150,4±6,4	127,2±6,7	142,5±2,8	140,6±5,6	118,9±6,3	126,7±4,4
Опытная серия (Алюстат)							
АЧТВ, с	21,7±0,9	21,5±0,8	25,8±0,7*	20,3±1,0	22,4±1,0	21,9±0,6	22,6±0,7
ПВ, с	8,0±0,1	8,2±0,2	7,9±0,2	8,3±0,2	8,8±0,2* <sup>◇</sup>	8,6±0,1	8,1±0,1
ТВ, с	17,3±0,4	16,2±0,4	18,6±0,5	16,9±0,8	17,5±0,8	18,6±0,6**	19,3±0,3
Фибриноген, г/л	2,5±0,1	3,5±0,2*	2,7±0,2	3,3±0,1*	3,1±0,3	2,3±0,2	2,4±0,1
ЭФ, мин	141,8±3,8	144,4±4,0 <sup>◇</sup>	142,9±3,7 <sup>◇</sup>	136,5±4,8 <sup>◇</sup>	120,7±5,3* <sup>◇</sup>	132,2±5,2	144,3±3,5**
Серия сравнения (Капрамин)							
АЧТВ, с	22,4±0,8	25,4±1,2	23,8±1,2	23,6±1,0	24,5±1,0	22,0±1,0	23,7±2,2
ПВ, с	7,5±0,1	7,5±0,2	7,5±0,2	7,9±0,2	7,9±0,1	8,1±0,1	7,7±0,6
ТВ, с	17,0±0,5	16,2±0,5	16,9±0,8	18,6±1,1	17,4±1,8	19,0±0,7**	17,3±1,3
Фибриноген, г/л	2,5±0,1	3,6±0,2*	3,1±0,2	3,4±0,4*	2,6±0,2	2,4±0,3	2,9±0,2
ЭФ, мин	149,5±3,5	163,7±2,7*	164,5±3,4* <sup>**</sup>	174,1±2,8* <sup>**</sup>	152,5±6,4	151,4±3,9**	159,3±2,5**
* – статистически достоверно по сравнению с исходными данными по t-тесту Стьюдента при уровне значимости p<0,05; ** – статистически достоверно по сравнению с животными контрольной серии по критерию Тьюки при уровне значимости p<0,05; ◇ – статистически достоверно по сравнению с животными серии сравнения по критерию Тьюки при уровне значимости p<0,05.							

Активация факторов I фазы сохранялась у кроликов на протяжении 15 суток. На 15 сутки наблюдения, очевидно, развилась вторая волна воспалительного процесса, что сопровождалось повышением содержания фибриногена, активацией III (ТВ) фазы плазменного гемостаза и наличием в крови РФМК. К 30 суткам эксперимента у кроликов контрольной серии наблюдалась нормализация плазменных показателей коагуляции. У животных серии сравнения, которым десневой разрез обрабатывали Капрамином, концентрация фибриногена на 3 и 7 сутки наблюдения продолжала оставаться выше исходных значений, что, вероятно, также связано с развитием воспаления на моделируемую патологию. В эти же сроки наблюдения отмечалось снижение фибринолитической активности плазмы крови. Так, время эуглобулинового лизиса увеличилось на 9,5 % и 10 % в 1 и 3 сутки эксперимента по сравнению с исходными значениями и на 16 % – на 7 сутки эксперимента. Известно, что снижение фибринолитической активности при повышенном уровне фибриногена в плазме крови в организме чревато развитием тромботического состояния. На 1 сутки исследования наблюдалось снижение на 13,4 % активности факторов протромбинаобразования (удлинение АЧТВ) и наличие в крови у части животных растворимых фибрин мономерных комплексов, которые регистрировались в течение первой недели исследований. Протромбиновое время, начиная с 7 по 15 сутки, увеличилось на 4 % по отношению к исходным данным. Такое состояние коагуляционных факторов свидетельствует о тромбинемии и потреблении факторов I фазы коагуляции. При изучении коагуляционного статуса животных, остановку кровотечения у которых осуществляли с помощью ЛС Алюстат, отмечалось повышение уровня фибриногена на 1; 7 и 10 сутки и удлинение АЧТВ (на 18,9 %) на 3 сутки после операции. Однако в других показателях плазменного гемостаза кроликов данной серии изменений в первую неделю эксперимента практически не наблюдали. Только на 11 сутки исследования было зарегистрировано усиление фибринолитической активности плазмы крови на 15 % относительно исходных значений.

Динамика изменений функциональной способности тромбоцитов у животных опытной серии, которым осуществлялась остановка кровотечения из раневой поверхности Алюстатом, свидетельствовала о том, что при использовании в качестве гемостатического пособия при моделируемом десневом разрезе разработанного лекарственного средства, предназначенного для местного применения в стоматологической практике, на протяжении всего периода исследования после осуществления гемостаза усиления процесса активации тромбоцитов не отмечалось.

**Заключение.** Таким образом, исследования показали, что при моделировании десневого разреза в первые 3-4 суток после операции у кроликов развиваются гиперкоагуляционные нарушения в плазменном звене системы гемостаза на фоне повышения агрегационных свойств тромбоцитов, причем в большей степени у животных с самопроизвольной остановкой кровотечения. Это, вероятно, связано с развитием реактивной воспалительной реакции на

альтерирующее воздействие, поскольку степень ее выраженности у кроликов контрольной серии была больше, чем в серии сравнения и опытной серии. Полученные результаты также позволяют сделать вывод об отсутствии у Алюстата способности проявлять системное действие в отношении вторичного (плазменного) звеньев гемостаза.

Список литературы:

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства Алюстат : согласовано с М-вом здравоохранения Респ. Беларусь № 447 от 28.04.2014, рег. удостоверение № 17/11/1587 от 14.04.2014 ; действительна до 14.04.2019. – Минск, 2014. – 3 с.

2. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 (02040). – Введ. 28.03.08. – Минск : М-во здравоохр. Респ. Беларусь, 2008. – 35 с.

3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ОАО «Изд-во “Медицина”», 2005. – 832 с.

4. Evaluation of bleeding risk and measurement methods in dental patients / A. Cañigral [et al.] // Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal. – 2010. – Vol. 15, № 6. – P. 863–868.

5. Тагиева, Ф. Р. Экспериментальная оценка медико-биологических свойств отечественного гемостатического средства местного действия Алюстат / Ф. Р. Тагиева, В. Н. Гапанович // Стоматолог. – 2016. – № 2. – С. 25–36.