

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2024.3.63>

Оценка специфической активности пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида

В.А. Молоток¹, Т.Ф. Черных², С.Э. Ржеусский¹, А.А. Кузьмич¹, Д.С. Небышинец¹

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Вестник ВГМУ. – 2024. – Том 23, №3. – С. 63-68.

Determining the specific activity of medical hemostatic foam based on aluminum chloride

V.A. Malatok¹, T.F. Chernykh², S.E. Rzhеussky¹, A.A. Kuzmich¹, D.S. Nebyshinets¹

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russian Federation

Vestnik VGMU. 2024;23(3):63-68.

Резюме.

В предыдущих исследованиях нами был разработан лекарственный препарат в виде пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида. Целью данной работы было оценить специфическую активность пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида методом моделирования паренхиматозного кровотечения на печени крыс с выведением животных на 1, 3, 7, 14, 21, 30 сутки, который описан в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств доктора медицинских наук, профессора А.Н. Миронова. В качестве критериев оценки были выбраны время достижения гемостаза и такие послеоперационные осложнения, как наличие воспаления, признаков рецидива кровотечения, спаечного процесса и фибринового налета. Время достижения гемостаза определяли как время удаления лекарственного препарата с поверхности раны. Также оценивали время восстановления активности животного после проведенной операции. Определено, что при использовании пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида гемостаз паренхиматозного кровотечения наступал в среднем за $11,96 \pm 6,56$ с. Встречаемость налета фибрина уменьшалась к 30 суткам, а его локализация ограничивалась областью нанесенной раны. Установлено, что воспалительный процесс и признаки рецидива кровотечения отсутствовали с первых суток наблюдения. У 40 животных из 72 развился спаечный процесс, у 69 из 72 крыс активность восстановилась в течение 1 суток.

Ключевые слова: алюминия хлорид, пена медицинская, паренхиматозное кровотечение, гемостаз, кровоостанавливающие лекарственные препараты.

Abstract.

In previous studies we have developed the medicine in the form of medical hemostatic foam based on aluminum chloride. The purpose of this work was to evaluate the specific activity of a medical hemostatic foam based on aluminum chloride by modelling parenchymal bleeding on the liver of rats with the withdrawal of animals on days 1, 3, 7, 14, 21, 30, which had been described in the Guidelines for conducting preclinical studies of medicines by Doctor of Medical Sciences, Professor A.N. Mironov. The time to achieve hemostasis and such postoperative complications as the presence of inflammation, signs of recurrent bleeding, adhesions and fibrin plaque were selected as evaluation criteria. The time of achieving hemostasis was determined as the time of removing the medicine from the wound surface. The recovery time of the animal's activity after the performed operation was also assessed. It was determined that when using medical hemostatic foam based on aluminum chloride, hemostasis of parenchymal bleeding occurred on an average in $11.96 \pm$

6.56 s. The occurrence of fibrin plaque decreased by day 30, and its localization was limited to the area of the inflicted wound. It was established that the inflammatory process and the signs of recurrent bleeding were absent from the first day of observation. In 40 animals out of 72, an adhesive process developed, in 69 out of 72 rats, the activity was restored within 1 day.

Keywords: aluminum chloride, medical foam, parenchymal bleeding, hemostasis, hemostatic drugs.

Введение

Согласно литературным данным, по всему миру в последнее десятилетие наблюдается стремительный рост интереса к вопросу разработки местных гемостатических средств для применения в абдоминальной хирургии, что можно связать с широкой распространенностью возникновений кровотечений в брюшной полости по различным причинам. Повреждение внутренних органов живота встречаются как при открытых, так и закрытых травмах, которые могут быть нанесены не только в военных условиях, но и в мирное время, например, при дорожно-транспортных происшествиях, падениях с высоты, запланированных операциях и др. Возникновение внутренних кровотечений выходит на передний план в первую очередь при повреждении паренхиматозных органов, в отличие от полых органов, при травме которых главную роль играет быстрое развитие перитонита. Внешними признаками возникновения паренхиматозного кровотечения являются бледность кожи, стремительное снижение артериального давления, учащение дыхания и пульса. Клиническими признаками в таких случаях являются ослабление кишечной перистальтики и притупление перкуторного звука во фланках живота [1]. Выживание таких пациентов напрямую зависит от времени, прошедшего с момента травмы – через 2 часа это 90%, но по прошествии более 6 часов падает до 25% [2].

Консервативное лечение пациентов с травмами живота возможно только при соблюдении ряда условий, куда относятся, например, стабильная гемодинамика, ясное сознание, отсутствие признаков перитонита и сочетанных повреждений и др. Показаниями к экстренной лапаротомии являются в первую очередь нестабильные показатели гемодинамики [2, 3].

Местные гемостатические средства успешно используются при поверхностных плоскостных травмах паренхиматозных органов живота без применения дополнительного ушивания. Также их применение обосновано и при операциях,

травмирующих значительную часть паренхимы органа, например, при гемигепатэктомии. Кроме того, применение такого метода лечения возможно в сложных ситуациях, обусловленных наличием в анамнезе пациента коагулопатии. Поэтому важно наличие различных видов таких средств в любом лечебно-профилактическом учреждении для возможности выбора, строго исходя из особенностей каждой интраоперационной ситуации [2, 4].

Кровоостанавливающие средства для местного применения должны обладать рядом свойств: антибактериальный эффект, атравматичность, высокая адгезивная способность, апирогенность, биodeградация и др. [4, 5].

В предыдущих исследованиях нами был разработан лекарственный препарат в виде пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида [6, 7]. Целью данной работы было оценить специфическую активность данной разработки методом *in vivo*.

Материал и методы

Основной задачей при оценке эффективности пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида было установить среднее время остановки паренхиматозного кровотечения. Для ее решения был выбран метод моделирования паренхиматозного кровотечения, описанный в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств доктора медицинских наук, профессора А.Н. Миронова [8]. Данный метод позволяет оценить специфическую фармакологическую активность гемостатических лекарственных препаратов для местного применения. В качестве субъекта в таком исследовании могут выступать крысы, собаки, свиньи и кролики. Так как в рамках данной работы нас интересовало изучение только среднего времени достижения гемостаза, без установки среднего объема кровопотери и без забора крови для коагулопатических проб, моделирование паренхиматозного кровотечения проводили

на некрупных животных – беспородных крысах. Целевым органом нанесения повреждения была печень, так как проведение эксперимента непосредственно на паренхиматозном органе дает меньший разброс значений в сравнении с исследованием на хвосте.

Схема проведения эксперимента была следующая. Первоначально определяли вес каждого животного для расчета количества тиопенталового наркоза (5 мг действующего вещества на 100 г веса крысы). После внутрибрюшинного введения данного раствора и оказания им снотворного и анестетического действия по предварительно обстриженной и продезинфицированной зоне белой линии живота выполняли лапаротомию с использованием продольного разреза. В рану выводили часть печени, ограничивая ее стерильными марлевыми салфетками, смоченными физиологическим раствором, и наносили при помощи скальпеля повреждение паренхимы размером около 1 см² и глубиной не более 0,1 см для возникновения паренхиматозного кровотечения. Далее на место раны из специального флакона с насадкой выдавливали дозу пены медицинской так, чтобы она закрывала всю область кровотечения. Время достижения гемостаза определяли как время удаления лекарственного препарата с поверхности раны, так как за достаточное для гемостаза время, предварительно полученное в исследованиях по установке состава [6], пена медицинская не успевала полностью деградировать. В случаях, когда заданного времени не хватало для оказания лечебного эффекта, состав наносили снова на 5-10 с.

После остановки кровотечения крыс зашивали и выводили на 1, 3, 7, 14, 21, 30 сутки после операции посредством цервикальной дислокации под наркозом. В зависимости от времени выведения животных определяли в отдельную группу, внутри которой по каждой особи фиксировали параметры послеоперационных осложнений:

- наличие и локализация налета фибрина;
- наличие спаечного процесса, количество спаек;
- наличие и локализация воспалительного процесса;
- наличие признаков рецидива кровотечения;
- восстановление активности животного после перенесенной операции.

С учетом желаемого нами уровня ошибки I рода (уровень значимости $\alpha \leq 0,05$) и уровня ошибки II рода (уровень значимости $\beta \leq 0,10$), со-

ответственно, при мощности исследования 90%, при установленной в проведенном нами ранее пилотном исследовании пропорции случаев с осложнениями после тестируемого вмешательства, равной ~ 66% [6], и с учетом предположения, что к концу исследования доля осложненных случаев должна составить 0%, при выборе двусторонней (two-tailed) гипотезы рассчитанный нами объем выборки для одной экспериментальной группы, необходимый для обеспечения ее репрезентативности, составил $n=9$ (Statistica 10.0, метод расчета Two Proportions, Z-test). Для удобства экспериментаторов и с целью профилактики возможных погрешностей в вычислениях объем исследуемой выборки был нами увеличен до 12 особей по каждой группе, то есть всего в эксперимент было включено 72 животных [9, 10]. Исключение из эксперимента проводили по следующим причинам: летальность, не связанная с применением лекарственного препарата; зона нанесенного повреждения печени больше установленной критериями исследования.

Дополнительно в эксперимент была включена группа плацебо, которая состояла из 4 животных. Для нее использовали образец пены, содержащий только вспомогательные вещества, без алюминия хлорида.

Обработку полученных результатов проводили в программе Microsoft Excel.

Эксперимент проводился согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [11].

Результаты

В результате исследования группы плацебо установлено, что данные образцы характеризуются жидким состоянием, неспособны удерживаться на ране печени и не обладают кровоостанавливающим действием.

Среднее время достижения гемостаза при использовании пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида на 72 беспородных крысах составило $11,96 \pm 6,56$ с. После нанесения лекарственного препарата на поверхность раны подтеки крови не наблюдаются, при этом пена медицинская надежно удерживается на поверхности печени, не стекает с нее и разрушается в течение 2-3 минут.

Восстановление нормальной активности после операции у 69 животных происходило в течение первых суток.

При выведении животных на 1 сутки у 3 особей было обнаружено начало формирования спаечного процесса – область раны печени была склеена с петлями кишечника и желудком. Налет фибрина с локализацией в зоне повреждения определен у 4 крыс, на здоровых тканях – не обнаружен. Признаки рецидива кровотечения не установлены. Жидкость в брюшной полости и признаков воспаления здоровых тканей не наблюдали, рана имела цельный, затянувшийся вид. У одного животного к моменту выведения активность не восстановилась (табл.).

На 3 сутки выведения спаечный процесс обнаружен еще у 4 крыс, а налет фибрина – у 3, однако его распространение также не выходит за пределы зоны повреждения печени. Признаков воспаления, асцита не обнаружено, отмечено заживление ткани без осложнений. В сравнении с 1 сутками более четко просматривалось формирование рубца, признаков его разрыва и возобновления кровотечения не было. Одно из 12 животных не восстановилось к моменту выведения – было малоподвижным, вялым (табл.).

В группе, где животных выводили из эксперимента спустя неделю, отмечено успешное продолжение заживления тканей, втянутый рубец без воспалительного процесса, небольшой налет фибрина встречался у 2 особей из 12 – минимальный показатель за все время эксперимента. Встречаемость спаечного процесса увеличилась в сравнении с 1 и 3 сутками – 75% (табл.).

Через 2 недели после проведенной манипуляции наблюдали ткань печени без признаков отечности, след от повреждения паренхимы ви-

зуально виден, но в сравнении с прошлыми группами менее выражен, рецидива кровотечения, жидкости в брюшной полости и воспаления не наблюдали. Налет фибрина обнаружен у 4 животных. Спаечный процесс развился еще у 10 особей – максимальный показатель за все время эксперимента (табл.).

На 21 сутки налет фибрина обнаружен также у 4 крыс в группе. Печень в месте раны по цвету более светлого цвета, внешних признаков воспаления и рецидива кровотечения не определено. Встречаемость спаечного процесса снизилась, но в сравнении с первой неделей заживления все еще оставалась на высоком уровне – 75,0% (табл.).

На 30 сутки заживления раны печени участок повреждения выглядел однородно, его цвет незначительно отличался от цвета здоровых тканей. Налет фибрина был обнаружен у 3 особей, а полностью сформированные спайки наблюдали у 5 особей. Восстановление активности одной из крыс произошло в течение вторых суток (табл.).

Обсуждение

Доказано, что при использовании пены медицинской кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида гемостаз паренхиматозного кровотечения наступал в среднем за $11,96 \pm 6,56$ с.

При выведении крыс из эксперимента налет фибрина наблюдали у 33,3% прооперированных животных на 1 сутки, у 25,0% на 3, у 16,7% на 7 сутки, у 33,3% по прошествии 2 недель, 33,3% – 3 недель и у 25% при выведении крыс через месяц. Как правило, фибрин был локализован в области нанесенной раны и не выходил на здоровые ткани печени.

Таблица – Среднее время гемостаза и процент встречаемости каждого послеоперационного осложнения в группе выведения

	Среднее время гемостаза, с	Наличие фибринового налета в группе, %	Наличие спаечного процесса в группе, %	Наличие воспаления в группе, %	Восстановление активности в течение 1 суток в группе, %	Наличие признаков рецидива кровотечения в группе, %
на 1 сутки	10,92±2,15	33,3	25,0	0	91,7	0
на 3 сутки	13,92±6,91	25,0	33,3	0	91,7	0
на 7 сутки	10,83±1,95	16,7	75,0	0	100,0	0
на 14 сутки	15,83±14,28	33,3	83,3	0	100,0	0
на 21 сутки	11,58±4,38	33,3%	75,0	0	100,0	0
на 30 сутки	10,0±0,00	25,0	41,7	0	91,67	0

Обнаружено по 1-2 спайки у 40 животных из 72 вне зависимости от времени выведения из эксперимента при применении разработанного лекарственного препарата.

Установлено, что воспалительный процесс и признаки рецидива кровотечения отсутствовали с первых суток наблюдения.

Определено, что в группах выведения на 1 и 3 сутки восстановление нормальной активности не произошло всего у 3 особей. У остальных 69 животных подвижность восстановилась в течение 1 суток.

Заключение

Таким образом, пена медицинская кровоостанавливающего действия на основе алюминия хлорида обладает доказанной гемостатической активностью (среднее время гемостаза $11,96 \pm 6,56$ с), не вызывает значительного воспаления ткани печени, самостоятельно разрушается в течение 2-3 минут и, следовательно, может использоваться для остановки паренхиматозных кровотечений.

Источник финансирования: Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований. Работа выполнялась в рамках гранта БРФФИ «Наука-М» 2022.

Source of financing. Belarusian Republican Foundation for Basic Research. The research work was conducted within the frames of the BRFFR grant "Science-M" – 2022.

Литература

1. Клинические рекомендации (протокол) по оказанию скорой медицинской помощи при травме живота, нижней части спины / Общерос. обществ. орг. «Рос. о-во

скорой мед. помощи». Казань, 2014. 18 с.

2. Интраоперационная тактика местного хирургического гемостаза при травмах и плановых операциях на паренхиматозных органах брюшной полости / Г. А. Бондарев [и др.] // Вест. эксперим. и клин. хирургии. 2020. Т. 13, № 3. С. 268–278. doi: 10.18499/2070-478X-2020-13-3-268-278
3. Консервативное ведение пациентов с закрытой травмой паренхиматозных органов брюшной полости и забрюшинного пространства с забрюшинными кровоизлияниями – показания, методика и целесообразность / В. В. Александров [и др.] // Журн. им. Н. В. Склифосовского «Неотлож. мед. помощь». 2021. Т. 10, № 3. С. 540–548. doi: 10.23934/2223-9022-2021-10-3-540-548
4. Кучкаров, М. Ю. Локальные гемостатики в хирургии паренхиматозных органов: биологические и фармакологические свойства / М. Ю. Кучкаров, А. Х. Бабаджанов, Б. Р. Абдуллажанов // Тиббиёт ва спорт. 2023. №1. С. 70–74.
5. Исследование мнения врачей-хирургов об использовании гемостатических аппликационных материалов / Г. А. Бондарев [и др.] // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. 2020. № 8. С. 61–68. doi: 10.17116/hirurgia202008161
6. Молоток, В. А. Фармацевтическая разработка пены медицинской кровоостанавливающего действия / В. А. Молоток, С. Э. Ржеусский // Вестн. фармации. 2021. № 4. С. 22–25.
7. Молоток, В. А. Выбор вспомогательных веществ пены медицинской кровоостанавливающего действия / В. А. Молоток, С. Э. Ржеусский // Вестн. фармации. 2022. № 3. С. 56–64.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / редкол.: А. Н. Мионов [и др.]. Москва : Гриф и К, 2013. 944 с.
9. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. Москва : Медиа Сфера, 2006. 312 с.
10. Kirkwood, B. R. Essential medical statistics / B. R. Kirkwood, J. A. C. Sterne. Wiley-Blackwell, 2003. 2nd ed. 512 p.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [Electronic resource]. Mode of access: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063>. Date of access: 03.06.2024.

Поступила 19.03.2024 г.

Принята в печать 14.06.2024 г.

References

1. Obshcheros obshchestv org «Ros o-vo skoroi med pomoshchi». Clinical recommendations (protocol) on emergency medical care for abdominal, lower back trauma. Kazan, RF; 2014. 18 p. (In Russ.)
2. Bondarev GA, Lipatov VA, Severinov DA, Saakyan AR. Intraoperative tactics of local surgical hemostasis in trauma and planned operations on parenchymatous organs of the abdominal cavity. Vest Eksperim Klin Khirurgii.

2020;13(3):268-78. (In Russ.). doi: 10.18499/2070-478X-2020-13-3-268-278

3. Aleksandrov VV, Maskin SS, Ermolaeva NK, Matyukhin VV. Conservative management of patients with closed trauma to parenchymatous organs of the abdominal cavity and retroperitoneum with retroperitoneal hemorrhage - indications, methodology and feasibility. Zhurn im NV Sklifosovskogo Neotlozh Med Pomoshch'. 2021;10(3):540-48. (In Russ.). doi: 10.23934/2223-9022-2021-10-3-540-548

4. Kuchkarov MYu, Babadzhanov AKh, Abbulazhanov BR. Local hemostatics in parenchymatous organ surgery: biological and pharmacologic properties. *Tibbiet Va Sport*. 2023;(1):70-4. (In Russ.)
5. Bondarev GA, Lipatov VA, Lazarenko SV, Severinov DA, Saakyan AR. A survey of surgeons' opinions on the use of hemostatic application materials. *Khirurgiya Zhurnim NI Pirogova*. 2020;(8):61-8. (In Russ.). doi: 10.17116/hirurgia202008161
6. Molotok VA, Rzhesskiy SE. Pharmaceutical development of medical hemostatic foam. *Vestn Farmatsii*. 2021;(4):22-5. (In Russ.)
7. Molotok VA, Rzhesskiy SE. Selection of auxiliary substances of medical styptic foam. *Vestn Farmatsii*. 2022;(3):56-64. (In Russ.)
8. Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasilyev AN, Verstakova OL, Zhuravleva MV, Lepakhin VK, i dr, redkol. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Ch 1. Moscow, RF: Grif i K; 2013. 944 p. (In Russ.)
9. Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application of STATISTICA application program package. Moscow, RF: Media Sfera; 2006. 312 p. (In Russ.)
10. Kirkwood BR, Sterne JAC. *Essential medical statistics*. Wiley-Blackwell; 2003. 2nd ed. 512 p.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [Internet]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063>. [Accessed 03th June 2024].

Submitted 19.03.2024

Accepted 14.06.2024

Сведения об авторах:

В.А. Молоток – аспирант кафедры организации и экономики фармации, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

e-mail: veronikanovitskaya1998@gmail.com – Молоток Вероника Андреевна;

Т.Ф. Черных – д.ф.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет;

С.Э. Ржеуский – к.ф.н., доцент кафедры организации и экономики фармации, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

А.А. Кузьмич – студентка 5 курса лечебного факультета, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

Д.С. Небышинец – студентка 5 курса лечебного факультета, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

V.A. Malatok – postgraduate of the Chair of Organization & Economy of Pharmacy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

e-mail: veronikanovitskaya1998@gmail.com – Veranika A. Malatok;

T.F. Chernykh – Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor, head of the Chair of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,

S.E. Rzhesskiy – Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor of the Chair of Organization & Economy of Pharmacy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

A.A. Kuzmich – the fifth-year medical student, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

D.S. Nebyshinets – the fifth-year medical student, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.