



Изучение эффективности препарата «Гемостоп» в эксперименте на животных

Ю.А.Степанов¹, Н.Н.Каркищенко², М.Ф.Черкасов¹, В.Н.Каркищенко²,
Г.Д.Капанадзе², В.В.Бояринцев³, В.Б.Назаров³

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

² Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

³ НПЦ «Фармзащита» ФМБА России, Химки, Московская область

Контактная информация: e-mail: StepanovYurii@mail.ru, тел.8-918-541-84-52

В опыте на 9 животных (мини-свиньи светлогорской попляции) была изучена эффективность отечественного гемостатического препарата «Гемостоп». В эксперименте была доказана эффективность препарата в достижении окончательного гемостаза при кровотечении и ложа желчного пузыря при холецистэктомии, а так же доказана индифферентность препарата по отношению к функции печени, почек и поджелудочной железы, что свидетельствует о возможном безопасном применении данного препарата у больных с нарушением функции данных органов.

Ключевые слова: гемостоп, кровотечение, холецистэктомия.

Существующие на сегодняшний день методы гемостаза при кровотечениях из печени, в частности, ложа желчного пузыря, можно разделить на четыре группы: механические, биологические, химические, физические [3].

Старейшим механическим методом остановки кровотечения из ложа желчного пузыря, «прошедшим огонь и воду...», является тампонирование ложа желчного пузыря марлевыми салфетками. Несмотря на все недостатки данной методики, а именно – образование спаек, ослизнение тампона с формированием абсцессов и свищей брюшной полости, а также нагноение послеоперационной раны [2], методика активно применяется и пропагандируется

многими хирургами и в настоящее время как кратковременный, так и пролонгированный, до 3-6 суток, способ гемостаза ложа желчного пузыря [1, 10]. В качестве окончательного гемостаза при паренхиматозном кровотечении наиболее часто используется метод гепатопластики, заключающийся в ушивании печени П- и 8-образными швами, использовании шва Петрова, шва Drobni с фибриновыми «пуговицами», перитонизация ложа желчного пузыря, в том числе в модификации Тальмана как одиночными, так и непрерывными швами, тампонирование сальником, круглой связкой и другие методики [7, 16].

История применения биологических методов гемостаза уходит своими кор-

нями в самое начало прошлого столетия, когда Berger впервые сообщил о гемостатических свойствах фибрина. С конца 30-х начала 40-х гг. прошлого столетия препараты биологического гемостаза, а именно: фибриновая пленка, коллагеновая гемостатическая губка, гемостол, желатиновая губка, ГемоКомпакт, Тахокомб и др., – активно разрабатываются и внедряются в повседневную практику хирурга [3, 11]. Когда фибриноген в присутствии хлорида кальция смешивается с тромбином, образуется фибриномономер, который под воздействием криоприсцепитата, содержащего фактор Виллебранда, немедленно превращается в прочную полимерную структуру. Данная реакция длится несколько минут, хотя по данным J.Scheele (1984), прочность фибринового сгустка продолжает нарастать в течение нескольких ближайших часов. Считается, что главным преимуществом фибринового клея является то, что процесс свёртывания при его применении не зависит от состояния системы гемостаза больного, а, значит, его применение оправдано при тяжелой коагулопатии [5]. Однако, обращают на себя внимание публикации об осложнениях, связанных с непосредственным использованием фибринового клея: Kram H.B. et al. (1991), Ochsner G.M. et al. (1993) наблюдали рецидивирующее кровотечение паренхимы печени после аппликации биологического клея, а Berguer R. et al. (1991), Spotnitz W.E. (1995) отмечали тяжёлую анафилактическую реакцию на аппликационный агент. На сегодняшний день во всех областях хирургии, особенно в гепатобилиарной, активно применяется несколько видов фибринового клея: Tissel, Tissucol, фибриновый клей, ГемоКомпакт [14]. Описаны несколько случаев применения BIOGLUE

(CRYOLIFE) при лапароскопической резекции почки [9].

Несмотря на все свои плюсы, существенными минусами препарата является необходимость удалять несущую коллагеновую поверхность после аппликации по прошествии 3-5 минут, наличие одной гемостатической стороны, т.е. невозможность гемостаза на удаляемой поверхности, а также высокая стоимость препарата, что затрудняет его использование при малоинвазивных вмешательствах и необходимости укрытия значительных по площади поверхностей [13].

Из группы химических агентов, получивших название адгезивы, наиболее широко применяются цианакрилатные клеи. Наиболее интенсивный период внедрения адгезивов в хирургическую практику, в том числе и в гепатобилиарную хирургию пришелся на конец 60-х начало 70-х годов XX века. Одним из главных недостатков клеевых композиций является неспособность осуществлять гемостаз на влажных поверхностях, что требует тщательного осушения поверхности перед их применением [17].

Способы физического гемостаза паренхиматозных кровотечений, а именно: воздействие горячего пара, воздуха, – имеют давнюю историю. Однако, с развитием более совершенной техники в своем прежнем виде данные методы «канули в Лету», применяясь в настоящее время на качественно новом уровне [13].

Большую роль в развитии высокочастотной электрохирургии в медицине сыграло внедрение в практику хирурга лапароскопических технологий и манипуляций из мини-доступа [17]. Современные высокочастотные электрохирургические генераторы работают в моно- или биполярном режимах в частотном диапазоне 350-1500 кГц.

При всех преимуществах применения высокочастотной энергии нельзя не упомянуть об особенностях, а также потенциальных проблемах последней. Ожоги печени и ложа желчного пузыря, как следствие длительной электроэксии, обнаруживаются у 6,74% больных после ЛХЭ, что проявляется в стойком повышении активности трансаминаз. Сохранение высокого уровня этих показателей в раннем послеоперационном периоде свидетельствует о значительном повреждении печеночной паренхимы. Изменение коэффициента де Ритиса в сторону повышения АЛТ свидетельствует о наличии некробиотических процессов в печеночной паренхиме. Немаловажную роль в развитии послеоперационных осложнений играет образующийся при коагуляции некротический струп толщиной до 8 мм, выступающий субстратом для инфицирования и вторичного кровотечения [12]. Также, высокой степенью риска является повреждения внутри- и внепеченочных желчных протоков после применения электрокоагуляции, особенно при ЛХЭ, что, зачастую, является причиной конверсии [22]. Данные повреждения, по мнению И.В. Фёдорова, (1997) включают в себя как прямое ранение протоков при рассечении тканей, так и опосредованное повреждение их через клипсы, инструменты и ишемию желчных протоков, как следствие деваскуляризации. Помимо вышесказанного, применение электрохирургического инструментария недопустимо у пациентов с имплантированными электродами, стимуляторами, так как может вызвать нарушение их работы и даже выход из строя [8].

Целью данной работы было изучить эффективность нового отечественного

гемостатического препарата «Гемостоп» в эксперименте.

Материалы и методы

Эксперимент проводился на 9 мини-свиньях (самцы) светлогорской популяции в возрасте 6 месяцев с массой 20-22 кг в НЦБМТ РАМН, в специально оборудованных операционных в асептических условиях на специальном V-образном столе-желобе, изготовленного из дюрала, отличающийся легкостью, прочностью и устойчивостью к агрессивным средам и дезинфицирующим растворам. Животных оперировали в положении лежа на спине с фиксацией всех четырех конечностей.

До операции всем животным производилось взятие крови из краниальной поллой вены. Этот метод был предложен сотрудниками Института цитологии и генетики СО АН СССР (Новосибирск) [4]. У мини-свиней краниальная поллая вена находится на уровне первого ребра под трахеей, дорзально от рукоятки грудной кости [6]. Свиньи фиксировались в положении на спине на V-образном столе желобе. После этого прощупывался краниальный выступ рукоятки грудной кости. Операционное поле обрабатывалось 70% этанолом. Шприц вводился в область яремного желоба на 0,5-1,0 см влево или вправо от сагиттальной линии и на 1-2 см впереди от краниального выступа рукоятки грудной кости, предварительно оттянув поршень шприца [6].

Все показатели крови рассчитывались на автоматическом анализаторе Chem Well «+» (производство США).

Под 5% раствором тиопентала-натрия в физиологическом растворе внутривенно, после обработки операционного поля, всем мини-свиньям выполнялась лапа-

ротомия, выделялся желчный пузырь и производилась типичная холецистэктомия от шейки с раздельной перевязкой пузырной артерии и пузырного протока. При выделении желчного пузыря из ложа не производилась его коагуляция а с целью гемостаза использовался новый отечественный препарат «Гемостоп».

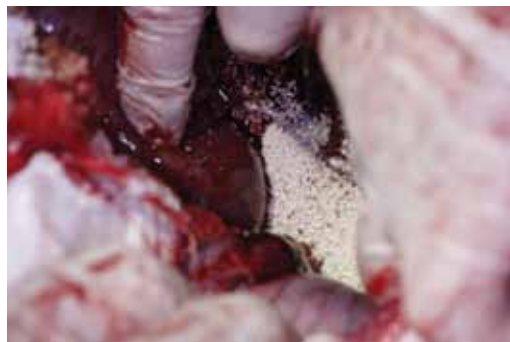
Препарат «Гемостоп» разработан и выпускается НПЦ «Фармзащита» ФМБА России. «Гемостоп» является производным цеолита NaCaAX, обладающего высокой абсорбирующей способностью (рис. 1). Гемостатический эф-



фект основан на быстром влагопоглощении. При контакте с кровью поглощается большой объем воды относительно массы и объема препарата, что приводит к локальной концентрации клеточных и крупных белковых компонентов крови, в т.ч. факторов свертывания. Это в свою очередь индуцирует формирование кровяного сгустка. Кроме того, поверхностный потенциал цеолита способствует активации XII фактора свертываемости крови и тромбоцитов. «Гемостоп» также содержит кальций, который является кофактором во многих звеньях коагуляционного каскада. При использовании изделие легко заполняет полость раны, не фиксируется к тканям, не всасывается, после применения легко удаляется меха-

ническим путем.

Порошок в количестве 20-25 г засыпали в ложе желчного пузыря, тампонировали марлевой салфеткой и через 5 минут удаляли тампон (рис. 2) и вымыва-



ли остатки порошка для контроля гемостаза. Гемостаз считался достигнутым, когда после удаления остатков порошка не наблюдалось видимого паренхиматозного кровотечения. Отметим, что во всех случаях после применения препарата, дополнительного гемостаза не понадобилось. По завершении операции брюшная полость ушивалась послойно наглухо. Кровопотеря во время операции составляла 150-200 мл.

Результаты и их обсуждение

Животные выводились из эксперимента на первые (3 свиньи), пятые (3 свиньи) и седьмые (3 свиньи) сутки после оперативного вмешательства путем передозировки 5% раствора тиопенталата натрия введенного внутривенно.

До операции у всех мини-свиней был взят общий анализ крови (ОАК) и биохимический анализ крови (глюкоза, амилаза, мочевины, креатинин, АСТ, АЛТ), данные представлены в таблице 1.

Перед выводом животных из эксперимента всем животным брали ОАК и

Таблица 1

Фоновые показатели крови экспериментальных животных

Показатель	Полученный показатель	Норма
Нб (г/л)	159,4±4,48	160,0-168
Эритроциты (1012/л)	6,5±1,72	5-8
Лейкоциты (109/л)	16,7±2,94	15-20
Глюкоза (ммоль/л)	5,1±1,65	3,3-8,8
Амилаза (Ед/л)	1246±578	420-2200
Мочевина (ммоль/л)	18,7±8,42	8,4-34,4
Креатинин (мкмоль/л)	85,8±36,4	50-137
АСТ (Ед/л)	74,8±24,8	42-142
АЛТ (Ед/л)	86,7±28,3	45-145

биохимию (глюкоза, амилаза, мочеви-
на, креатинин, АСТ, АЛТ). Затем путем
передозировки 5% раствора тиопентала-
натрия животных выводили из экспери-
мента. На вскрытии контроль гемоста-
за оценивался наличием или отсутстви-
ем крови в брюшной полости, а также

В табл. 2 представлены данные ОАК и
биохимические данные исходного уров-
ня и в динамике.

На 1-е сутки после операции по срав-
нению с исходным уровнем отмечает-
ся снижение Нб на 17% и эритроцитов
на 37%, что характеризует интраопера-

Таблица 2

Показатели крови животных на разных этапах исследования

Показатель	Фон	1-е сутки	5-е сутки	7-е сутки
Нб (г/л)	159,4±4,48	132±12,6	140,4±7,5	149,3±5,8
Эритроциты (1012/л)	6,5±1,72	4,1±1,1	5,1±0,86	5,6±1,2
Лейкоциты (109/л)	16,7±2,94	27,6±3,1	17,2±1,3	15,3±1,9
Глюкоза (ммоль/л)	5,1±1,65	4,2±2,5	4,4±1,6	4,1±1,9
Амилаза (Ед/л)	1246±578	1424±603	1304±524	1284±517
Мочевина (ммоль/л)	18,7±8,42	20,8±9,3	20,2±5,1	18,3±6,2
Креатинин (мкмоль/л)	85,8±36,4	94,6±41,1	87,4±38,2	83,2±34,6
АСТ (Ед/л)	74,8±24,8	99,6±29,4	82,1±27,8	70,6±26,6
АЛТ (Ед/л)	86,7±28,3	104,8±37,4	75,2±26,5	76,1±29,7

оценивалось общее влияние препарата
на окружающие органы путем наличия
или отсутствия макроскопических изме-
нений в близлежащих органах и тканях.

ционную кровопотерю, а в дальнейшем
на 5-е и 7-е сутки отмечается стабили-
зация данных показателей со снижени-
ем Нб на 6,7% и эритроцитов на 14%

от исходного уровня, что косвенно доказывает отсутствие внутрибрюшного кровотечения, наглядным доказательством чего стало отсутствие лизированной крови в брюшной полости при выводе животных из эксперимента и только в одном случае, при выводе животного на 5-е сутки, в брюшной полости было обнаружено 50 мл лизированной крови. При ревизии, у всех животных на 1-е сутки никаких макроскопических изменений в брюшной полости выявлено не было. На 5-е сутки отмечалось наличие несформированного рыхлого воспалительного инфильтрата в подпеченочном пространстве, что характерно для любого постоперативного процесса в данной области, других макроскопических изменений со стороны внутренних органов выявлено не было. На 7-е сутки отмечалось наличие небольшого инфильтрата в стадии рассасывания в зоне оперативного вмешательства. При этом в 1-е сутки после операции в ОАК отмечались воспалительные изменения в виде лейкоцитоза до $27,6 \pm 3,1 \times 10^9/\text{л}$, что нами было расценено как общий ответ организма на оперативное вмешательство, который в последующие дни снижался к 5-м суткам до нормальных значений – $17,2 \pm 1,3 \times 10^9/\text{л}$.

Увеличение трансаминаз: АСТ на 33% до $99,6 \pm 29,4$ Ед/л и АЛТ на 21% до $104,8 \pm 37,4$ Ед/л по сравнению с исходным уровнем на 1-е сутки после операции, что не выходило за пределы нормальных значений (АСТ – 42-142 Ед/л, АЛТ – 45-145 Ед/л), а так же дальнейшее снижение данных показателей до исходного уровня к 5-ым суткам может характеризоваться как нейтральное действие препарата на функцию печени, а начальный подъем расценен как ответ на интраоперационную травму.

С целью оценки действия препарата на функцию почек в послеоперационном периоде нами были проанализированы показатели мочевины и креатинина, которые по сравнению с исходным фоном увеличились через сутки на 11% мочевины до $20,8 \pm 9,3$ ммоль/л и на 10% креатинин до $94,6 \pm 41,1$ мкмоль/л и снижаясь до исходного уровня на 5-е и 7-е сутки, оставаясь при этом в пределах нормальных границ (мочевина – 8,4-34,4 ммоль/л, креатинин – 50-137 мкмоль/л), что свидетельствует об интактности препарата «Гемостоп» на функцию почек.

Учитывая область оперативного вмешательства – гепато-биллиарная зона, непосредственную близость поджелудочной железы, с целью оценки действия препарата на экзо- и эндокринную функцию последней, до и после операции мы оценивали показатели глюкозы и амилазы крови которые на имели достоверных отличий в до- и послеоперационном периодах, свидетельствующие о метаболической нейтральности исследуемого препарата на поджелудочную железу.

Выводы

1. Гемостоп – первый отечественный препарат на основе цеолитов, позволяющий добиться окончательного гемостаза при кровотечениях из паренхиматозных органов, в частности, при кровотечении из ложа желчного пузыря при холецистэктомии.

2. В ходе исследования гемостоп показал свою интактность по отношению к функции печени, почек и поджелудочной железе, что свидетельствует о возможности его безопасного применения у лиц с нарушениями функции данных органов.

3. При применении гемостопа не было отмечено пирогенных, аллергических и воспалительных реакций у подопытных животных, что свидетельствует о безопасности применения препарата.

Список литературы

1. **Борисов А.Е., Митин С.Е., Шолков СИ.** Использование тахокомба в нестандартных ситуациях // *Анн. хирург. гепатол.* – 2007. – Т.12. – №3. – С.48.

2. **Вишневский В.А., Кубышкин В.А., Чжао А.В.** Операции на печени. Руководство для хирургов. – М.: «МИКЛОШ», 2003. – 156 с.

3. **Горский В.А., Шуркалин Б.К., Фаллер А.П.** Окончательный гемостаз при вмешательствах на паренхиматозных органах // *Анн. хирург. гепатол.* – 2007. – Т.12. – № 3. – С.253.

4. **Гродецка Н.С.** Сравнительная оценка атеро- и геронтогенного действия фторида натрия на белых крысах и миниатюрных свиньях светлогорской популяции // *Материалы Всесоюзной конференции.* – Москва. – 1980. – С.48-49.

5. **Ермолов А.С., Абакумов М.М., Владимирова Е.С.** Травма печени. – М.: Медицина, 2003. – 192с.

6. **Осипов В.В.** Опыт моделирования алкоголя на мини-свиньях // *Фармакология и токсикология.* – 1988. – №3. – С.34-38.

7. **Пауткин Ю.Ф., Климов А.Е.** Хирургия желчных путей: Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 368с.

8. **Пряхин А.Н., Ревель-Муроз Ж.А., Сазанов В.В.** Обработка ложа желчного пузыря с помощью диодного лазера после лапароскопической хо-

лецистэктомии // *Хирургия деструктивного холецистита. Материалы межрегиональной научно-практической конференции.* – Екатеринбург, 20 октября 2002. – С.75-76.

9. **Пучков К.В., Винаров А.З., Савельев С.Н., Балаклеяев И.И., Курчаев О.П.** Первый опыт применения клея BIOGLUE (CRYOLIFE) при лапароскопической резекции почки // *Московский хирургический журнал.* – 2009. – № 4(8). – С.16-20.

10. **Сажин В.П., Федоров А.В.** Лапароскопическая хирургия. – М.: Реком., 1999. – 178 с.

11. **Ткачѳв П.В., Акопян А.А.** Возможности гемостаза ложа желчного пузыря при экстренных лапароскопических холецистэктомиях // *XXX Итоговая конференция общества молодых ученых. Труды конференции.* М.: МГМСУ, 2008. – С.332-334.

12. **Федоров И.В., Никитин А.Т.** Клиническая электрохирургия. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. – 88с.

13. **Фомин В.С.** Дополнительный гемостаз ложа желчного пузыря аппликацией биоконпозиции «Тромбокол»: Диссертация на соискание ученой степени канд. мед. наук. – М.: 2008 – 151с.

14. **Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Пастухов Д.В.** Влияние фибринового клея на ход посттравматической регенерации печени // *Анн. хирург. гепатол.* – 2006. – Т.11. – № 3. – С.61.

15. **Berguer R., Staerkel R.L., Voore E.E.** Warning: fatal reaction to the use of fibrin glue in deep hepatic woonds; case reports // *J.Trauma.* 1991. – Vol.31. – № 3. – P.408-411.

16. **Demirel A.H., Basar O.Z., Ongoren A.U. et al.** Effects of primary suture and fibrin sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver

injury // World J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14. – №1. – P. 81-84.

17. *Ji W., Li L., Wang Z. M. et al.* A randomized controlled trial of laparoscopic versus open cholecystectomy in patients with cirrhotic portal hypertension // World J. Gastroenterol. – 2005. – Vol.11. – № 16. – P.2513-2517.

18. *Kram H.B., Shoemaker W.C., Clark S.R. et al.* Spraying of aerosolized fibrin glue in the treatment of nonsuturable hemorrhage // Am.Surg. – 1991. – Vol.57. – № 6. – P.381-384.

19. *Tzovaras G., Dervenis C.* Vascular injuries in laparoscopic cholecystectomy: An underestimated problem // Dig. Surg. – 2006. – Vol.23. – № 5-6. – P.370-374.

To study the efficacy of the drug «Gemostop» in experiment on animals

**Y.A.Stepanov, N.N.Karkischenko, M.F.Cherkasov, V.N.Karkischenko,
G.D.Kapanadze**

The effectiveness of domestic haemostatic drug «Gemostop» were studied in the experiment on 9 males of mini-pigs. In the experiment proved the effectiveness of the drug to achieve final hemostasis in bleeding sludge gallbladder at cholecystectomy, as well as proof of indifference of the drug in relation to liver function, kidney and pancreas, indicating a possible safe use of this drug in patients with impaired function of the data bodies.

Key words: gemostop, bleeding, cholecystectomy.