

А.В. Денисов¹, А.М. Носов¹, С.Ю. Телицкий¹,
К.Н. Демченко¹, А.Б. Юдин², И.А. Шперлинг²,
А.В. Миляев³, А.Н. Гребенюк^{1,3}

Экспериментальная оценка эффективности нового отечественного местного гемостатического средства на основе хитозана

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург

²Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург

³Общество с ограниченной ответственностью «Специальная и медицинская техника», Санкт-Петербург

Резюме. Одной из основных причин гибели потенциально выживающих раненых военнослужащих на поле боя является продолжающееся кровотечение. В последние годы с появлением новой группы препаратов местного гемостатического действия результаты оказания догоспитальной помощи при наружных массивных кровотечениях существенно улучшились. При этом наибольшую эффективность продемонстрировали местные гемостатические средства на основе хитозана. Представлены результаты экспериментальной оценки эффективности новых местных гемостатических средств на основе хитозана: «Гемохит» (порошок, 20 г в упаковке) и «Гемохит-бинт» (бинт в z-укладке, 8×150 см) – с использованием модели наружного массивного артериального кровотечения у овец по варианту краевого повреждения бедренной артерии. Часть испытаний проводили после трехлетнего хранения препаратов (3 образца) и при условиях температуры окружающей среды минус 45°C (2 испытания). Установлено, что при наружном массивном артериальном кровотечении использование порошка и бинта в z-укладке обеспечило выживаемость животных в 100% случаях, первичный и окончательный гемостаз достигнут в 50 и 100% случаев соответственно. Хранение в течение 3 лет, а также использование препарата при низкой температуре окружающей среды не снижает его эффективности. Применение местных гемостатических средств «Гемохит» и «Гемохит-бинт» не сопровождается побочными эффектами (местная гипертермическая реакция, дистальная или проксимальная эмболия сосудов). Местные гемостатические средства «Гемохит» и «Гемохит-бинт» показали высокую эффективность в экспериментальной модели массивного наружного артериального кровотечения. Применение местного гемостатического средства «Гемохит» в форме бинта представляется более перспективным по удобству и эффективности, чем использование порошка.

Ключевые слова: наружное кровотечение, местное гемостатическое средство, хитозан, гемохит, гемохит-бинт, повреждение сосудов, гемостаз, первая помощь, повреждение артерии.

Введение. Основной причиной гибели раненых на поле боя является продолжающееся наружное кровотечение, при этом около 90% раненых погибают из-за несвоевременно и неадекватно оказанной помощи [9, 10]. В последние десятилетия одним из высокоэффективных и относительно безопасных способов остановки продолжающегося кровотечения является применение местных гемостатических средств (МГС) [3, 11]. Данные средства действуют достаточно быстро, и их можно использовать при интенсивных кровотечениях из смежных анатомических областей (основания конечностей, шея) и туловища, где применение кровоостанавливающего жгута малоэффективно.

В настоящее время в качестве наиболее эффективных и безопасных МГС рассматриваются средства на основе хитозана. В частности, на экспериментальной модели повреждения крупного артериального сосуда показана эффективность МГС «Celox» (MedTrade Products Ltd., Великобритания), которая составляла 60–77% в зависимости от формы препарата (бинт или порошок) [4, 14]. Как результат, этот гемостатик нашел

применение для оказания первой помощи раненым военнослужащим Североатлантического альянса в ходе продолжающейся войны в Афганистане [12]. Способностью быстро останавливать кровотечение обладает также еще один местный гемостатик на основе хитозана – «Гемофлекс» фирмы «Инмед» (Россия). В частности, использование МГС «Гемофлекс» позволило остановить артериальное кровотечение у 4 из 5 крупных лабораторных животных [4]. Однако применение существующих местных гемостатиков не всегда эффективно, а целый ряд из них обладает нежелательными побочными эффектами, что делает разработку, испытание и внедрение в практику новых МГС актуальной задачей.

Цель исследования. Оценить в эксперименте эффективность нового МГС на основе хитозана «Гемохит» на модели массивного наружного артериального кровотечения.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования выбрано новое МГС «Гемохит», разра-

ботанное обществом с ограниченной ответственностью «Специальная и медицинская техника» (Санкт-Петербург). В основе МГС «Гемохит» лежит модифицированный специальным образом хитозан – биоинертное органическое вещество, содержащее большое число свободных аминогрупп, что позволяет связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд. При контакте с кровью отрицательно заряженные эритроциты притягиваются к хитозану, что приводит к образованию сгустка и остановке кровотечения. Для исследования были представлены две формы этого средства – «Гемохит» в виде гранул по 20 г в упаковке и «Гемохит-бинт» в форме z-укладки размером 8×150 см.

Экспериментальные исследования проведены на 15 овцах романовской породы массой 28–32,5 кг при соблюдении требований нормативно-правовых документов о порядке проведения экспериментальных работ с применением животных [1]. В ходе первого этапа эксперимента животные были разделены на две группы: у овец первой группы (n=6) для остановки кровотечения применяли гемохит-бинт, у овец второй группы (n=4) гемохит в форме порошка. В ходе второго эксперимента на 3 овцах оценивали эффективность гемохита после его трехлетнего хранения. В ходе третьего эксперимента на 2 овцах изучали эффективность гемохит-бинта при температуре воздуха минус 45±5°С.

Перед каждым из экспериментов животные находились на обычном пищевом режиме. В день операции перед транспортировкой из вивария в экспериментальную операционную для индукции анестезии, а также в ходе наркоза внутримышечно вводили 5 мг/кг тилетамина и золазепам (Zoletil®100). Животное фиксировали на операционном столе в положении на спине с разведенными в стороны конечностями, выполняли трахеостомию. Продольным разрезом длиной 5–7 см над грудиной выполняли доступ к кольцам трахеи, выкраивали П-образный лоскут, основанием обращенный вниз, и вводили интубационную трубку № 9. В течение всего эксперимента проводили искусственную вентиляцию легких аппаратом «MinorVet TH-1A» (Китай) в режиме перемежающейся вентиляции с положительным давлением, частотой 12–15 вдохов в минуту с ингаляцией 100% кислорода. На вводном наркозе использовали 5 об. % а для поддержания анестезии – 1–2 об. % изофлурана. В правую бедренную артерию (БА) устанавливали интродьюсер 5 Fr для инвазивного мониторинга артериального давления (АД). При испытании эффективности МГС в условиях низких температур предоперационная подготовка животного производилась в перевязочной, затем животное доставляли в холодильную камеру «КХ-350» с температурой окружающей среды минус 45±5°С и проводили дальнейшее испытание препаратов. Испытываемое МГС перед использованием также охлаждалось до минусовой температуры окружающей среды.

За основу моделирования наружного артериального кровотечения была взята методика, предложенная

В. Kheirabadi et al. [11], которая была модифицирована В.А. Ревои и др. [5]. Характерной особенностью данной модели являются относительная простота ее выполнения, повторяемость и практически абсолютная летальность в случае отсутствия применения мер по остановке кровотечения. Кроме того, данная модель ранее активно использовалась в подобных экспериментах как специалистам армии Соединенных Штатов Америки, так и отечественными исследователями, что позволило нам провести некоторые параллели по сравнению эффективности образца гемохита с ранее испытанными по аналогичной методике МГС.

В левой паховой области выполняли разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 10 см, выделяли БА на протяжении 5 см. На артерию с помощью спрея наносили 10% раствор лидокаина для устранения спазма. Измеряли диаметр БА, устанавливали датчик температуры в рану и после атравматичного проксимального и дистального пережатия артерии сосудистыми зажимами с помощью выкусывателя сосудистой стенки (диаметром 6 мм) выполняли артериотомию (рис. 1).

После одновременного снятия всех зажимов выжидалось время свободного кровотечения – 45 с. Истекшая кровь собиралась при помощи хирургического электроотсоса и тампонов, которые впоследствии взвешивались. Из раны удалялась скопившаяся кровь, и тотчас выполнялась аппликация МГС (порошок или бинт). Затем проводилась местная мануальная компрессия в течение 3 минут. По истечении заданного времени компрессии выполняли моделирование тугой давящей повязки посредством тампонирования раны стерильными марлевыми салфетками, а поверх раны (для сведения ее краев) накладывали бельевые цапки Бакгауза. При возобновлении кровотечения рану перетампонировали вторым пакетом МГС.

Время наблюдения за животными после моделирования кровотечения и использования МГС составляло 3 ч. По истечении этого времени производили маршевую пробу (5 сгибаний и разгибаний в тазобедренном суставе) и оценивали гемостаз в течение 3 минут, затем производили снятие повязки и удаление МГС из раны. Маршевая проба выполнялась с целью оценки гемостаза при моделировании эвакуации раненого с недостаточной иммобилизацией конечности.

В ходе экспериментов у животных оценивались следующие показатели:

- первичный гемостаз – остановка кровотечения сразу после применения первого пакета МГС и наложения давящей повязки;
- вторичный гемостаз – остановка кровотечения сразу после применения второго пакета МГС и наложения давящей повязки при неэффективности первого пакета МГС;
- окончательный гемостаз – отсутствие кровотечения в течение 3 ч наблюдения;
- отсутствие/возобновление кровотечения после маршевой пробы;

- общий объем кровопотери в ходе проведения эксперимента;
- температура в ране при использовании МГС;
- выживаемость.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что новое МГС на основе модифицированного хитозана «Гемохит» как в виде порошка, так и в виде бинта является высокоэффективным средством остановки наружного кровотечения из магистральных артерий конечностей.

При использовании МГС «Гемохит» во всех 10 случаях массивного кровотечения был достигнут окончательный гемостаз, и животные всех экспериментальных групп выжили. Первичная остановка кровотечения была достигнута в 50% случаев как при применении бинта, так и при использовании порошка, в остальных случаях потребовалось использование второй упаковки гемохита (табл. 1).

Проведение маршевой пробы показало, что при использовании гемохита в виде порошка рецидива кровотечения не возникало, в то время как при использовании бинта рецидив возник в 3 наблюдениях (50%), но возникшее кровотечение не было интенсивным и не приводило к летальному исходу. Все случаи возникновения рецидивного кровотечения происходили у животных с неэффективным первичным гемостазом.

В ходе исследования во всех случаях достигался гемостаз без формирования внутритканевой гематомы, что является безусловно положительным результатом. Данный факт говорит о достаточно быстром формировании плотного тромба, который предотвращает кровопотерю после применения гемохита.

При использовании гемохита в форме порошка возникали некоторые трудности, связанные с возможностью вымывания части средства при интенсивном артериальном кровотечении. В случае глубокого раневого канала применение порошка может быть затруднено и малоэффективно, так как условием эффективного применения хитозана является его

плотный контакт с источником кровотечения. При глубоких ранениях более эффективным будет применение бинта за счёт возможности подвести его непосредственно к источнику кровотечения. Еще одним относительно отрицательным свойством МГС в виде порошка является то, что его необходимо удалять на дальнейших этапах медицинской эвакуации, так как при оставлении части порошка в ране затрудняется репарация и возрастает риск развития местных инфекционных осложнений [2].

Измерение температуры в ране непосредственно в момент применения МГС «Гемохит» показало полное отсутствие какой-либо экзотермической реакции (рис. 2). Температура в ране сохранялась постоянной и составила $34,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (до применения МГС температура в ране была $34 \pm 0,3^\circ\text{C}$).

Остановка кровотечения в случае применения гемохита как в форме порошка, так и в форме бинта была обусловлена формированием плотного тромба из адсорбированных на матрице препарата (модифицированном хитозане) форменных элементов крови (рис. 3). При визуальном осмотре сосудов после удаления гемохита обнаруживался плотный сверток в области дефекта сосудистой стенки. При этом визуальный осмотр ни разу не выявил тромбоза артерии проксимальнее и/или дистальнее зоны дефекта.

Высокую гемостатическую эффективность гемохит демонстрировал и после его длительного (в течение 3 лет) хранения в стандартных условиях медицинского склада, а также при его применении в условиях экстремально низких температур окружающей среды (температура воздуха минус $45 \pm 5^\circ\text{C}$). При проведении маршевой пробы ни в одном из случаев не наблюдалось рецидива кровотечений. Все животные после применения гемохита, хранящегося в течение 3 лет, как и при использовании данного средства в условиях экстремально низких температур, выжили, несмотря на большой объем кровопотери из поврежденного магистрального сосуда (табл.2).

Таблица 1

Эффективность МГС «Гемохит» на модели артериального кровотечения из магистрального сосуда

Форма МГС	Гемостаз		Маршевая проба	Исход
	первичный	вторичный		
Бинт	Да	–	Рецидива не было	Выжил
Бинт	Нет	Да	Рецидив	Выжил
Бинт	Да	–	Рецидива не было	Выжил
Бинт	Нет	Да	Рецидив	Выжил
Бинт	Да	–	Рецидива не было	Выжил
Бинт	Нет	Да	Рецидив	Выжил
Порошок	Да	–	Рецидива не было	Выжил
Порошок	Нет	Да	Рецидива не было	Выжил
Порошок	Да	–	Рецидива не было	Выжил
Порошок	Нет	Да	Рецидива не было	Выжил

Примечание: в случае отсутствия первичного гемостаза производилось применение второго пакета аналогичного МГС.



Рис. 1. Краевое повреждение бедренной артерии

Таким образом, подтверждены ранее опубликованные данные отечественных и зарубежных авторов о высокой эффективности МГС на основе хитозана [8, 9, 11, 13]. Однако, в отличие от опубликованных данных, применение гемохита позволило остановить кровотечение из магистрального сосуда в 100% случаев, тогда как у МГС «Селох» (Великобритания) эффективность была на уровне 60–77% [5], а у гемофлекса – 70–80% [5].

Таким образом, эффективность гемохита сопоставима с эффективностью аналогичных МГС на основе хитозана и даже несколько превышает ее. Кроме того, гемохит эффективно останавливает кровотечение и после трехлетнего хранения препарата в условиях медицинского склада, а также при экстремально низких температурах окружающей среды, что особенно актуально при ведении боевых действий в средних широтах в зимний период и при осуществлении учебно-боевой деятельности в Арктике.

Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о перспективности применения МГС «Гемохит» для остановки массивных наружных кровотечений, а также позволяют рекомендовать дальнейшее его изучение на других экспериментальных моделях (доклинические исследования) и в условиях клиники.



Рис. 2. Температура в ране после применения гемохита в форме порошка. Отсутствие экзотермической реакции



Рис. 3. Формирование плотного тромба из связанной с гемохитом крови на дне раны. Отсутствие кровотечения из раны после снятия давящей повязки

Выводы

1. Местное гемостатическое средство на основе модифицированного хитозана «Гемохит» является высокоэффективным при остановке наружного артериального кровотечения из магистрального сосуда: первичный гемостаз наблюдался в 50% случаев, окончательный гемостаз – в 100% случаев, все животные с массивным кровотечением выжили.

Таблица 2

Показатели эффективности МГС «Гемохит» после трехлетнего хранения и при использовании в условиях экстремально низких температур

Объем кровопотери до МГС, мл	Объем кровопотери после МГС, мл	Общий объем кровопотери, мл	Применение второго пакета МГС (Да/Нет)	Маршевая проба
Гемохит после трехлетнего хранения				
665	0	665	Нет	Рецидива не было
493	240	733	Да	Рецидива не было
270	0	270	Нет	Рецидива не было
Гемохит-бинт при температуре воздуха минус 45±5°С				
950	100	1050	Да	Рецидива не было
1200	200	1400	Да	Рецидива не было

2. Применение МГС «Гемохит» в форме бинта представляется более перспективным по удобству и эффективности, чем использование порошка.

3. При экспериментальной оценке эффективности МГС «Гемохит» не было выявлено экзотермической реакции и других побочных эффектов, что свидетельствует о безопасности данного местного гемостатического средства.

4. МГС «Гемохит» сохраняет свою эффективность при остановке кровотечений после трехлетнего хранения препарата в условиях медицинского склада, а также при экстремально низких температурах окружающей среды.

Литература

1. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. – СПб.: Rus-LASA «НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными», рабочая группа по переводам и изданию тематической литературы, 2012. – 48 с.
2. Крупин, А.В. Оценка развития спаечного процесса в свободной брюшной полости при введении лабораторных образцов кровоостанавливающей гелиевой композиции на основе хитозана / А.В. Крупин [и др.] // Сб. тез. науч.-практ. конф. с международным участием «Скорая медицинская помощь – 2018». – 2018. – С. 83.
3. Самохвалов, И.М. Местные гемостатические средства: новая эра в оказании догоспитальной помощи / И.М. Самохвалов [и др.] // Политравма. – 2013. – № 1. – С. 80–86.
4. Самохвалов, И.М. Применение местного гемостатического средства «Селох» в экспериментальной модели массивного смешанного наружного кровотечения / И.М. Самохвалов [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2013. – № 4 (44). – С. 187–191.
5. Самохвалов, И.М. Сравнительная оценка эффективности и безопасности местных гемостатических средств в эксперименте / И.М. Самохвалов [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2017. – № 2. – С. 18–24.
6. Самохвалов, И.М. Усовершенствование экспериментальной модели для изучения эффективности местных гемостатических средств / И.М. Самохвалов [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2015. – Т. 336, № 3. – С. 19–25.
7. Чепур, С.В. О выборе модели наружного кровотечения для доклинической оценки эффективности местных гемостатических средств (обзор литературы) / С.В. Чепур [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2016. – Т. 337, № 7. – С. 25–33.
8. Arnaud, F. Comparison of 10 hemostatic dressings in a groin transaction model in swine / F. Arnaud [et al.] // J. trauma. – 2009. – Vol. 67, № 4. – P. 848–855.
9. Bellamy, R.F. The causes of death in conventional land warfare: implications for combat casualty care research / R.F. Bellamy // Mil. med. – 1984. – Vol. 149, № 2. – P. 55–62.
10. Champion, H.R. A profile of combat injury / H.R. Champion [et al.] // J. trauma. – 2003. – Vol. 54, Suppl. 5. – S. 13–19.
11. Gordy, S.D. Military applications of novel hemostatic devices / S.D. Gordy, P. Rhee, M.A. Schreiber // Expert. rev. med. devices. – 2011. – Vol. 8, № 1. – P. 41–47.
12. Kheirabadi, B.S. Safety evaluation of new hemostatic dressing in a model of extremity arterial hemorrhage in swine // J. trauma injury, infection and critical care. – 2009. – Vol. 67, № 3. – P. 450–459.
13. Pozza M. Celox (chitosan) for haemostasis in massive traumatic bleeding: experience in Afghanistan / M. Pozza, R.W. Millner // Eur. j. emerg. med. – 2011. – Vol. 18, № 1. – P. 31–33.
14. Sohn, V.Y. Efficacy of three topical hemostatic agents applied by medics in a lethal groin injury model / V.Y. Sohn [et al.] // J. surg. res. – 2009. – Vol. 154, № 2. – P. 258–261.

A.V. Denisov, A.M. Nosov, S.Yu. Telitskiy, K.N. Demchenko, A.B. Yudin, I.A. Shperling, A.V. Milyayev, A.N. Grebenyuk

Experimental assessment of efficiency of new domestic local haemostatic means on the basis of chitosan

Abstract. One of the main reasons for the death of potentially wounded military personnel on the battlefield is ongoing bleeding. In recent years, with the advent of a new group of local hemostatic drugs, the results of prehospital care with external massive bleeding have improved significantly. At the same time, local haemostatic agents based on chitosan showed the greatest effectiveness. The results of the experimental evaluation of the effectiveness of new local haemostatic agents based on chitosan: «Gemohit» (powder, 20 g in the package) and «Hemohit-bandage» (a bandage in the z-fold, 8x150 cm) using the model of external massive arterial bleeding in sheep according to the variant of marginal femoral artery injury. Some of the tests were carried out after 3 years of storage of the preparations (3 samples) and under ambient conditions minus 45°C (2 tests). It was found that with external massive arterial bleeding, the use of powder and bandage in the z-fold ensured survival of the animals in 100% of cases, primary and final hemostasis was achieved in 50 and 100% of cases, respectively. Storage for 3 years, as well as use of the drug at low ambient temperature does not reduce its effectiveness. The use of local haemostatic agents «Gemohit» and «Hemohit-bandage» is not accompanied by side effects (local hyperthermal reaction, distal or proximal embolism of blood vessels). Local haemostatic funds «Gemohit» and «Gemohit-bint» showed high efficiency in the experimental model of massive external arterial bleeding. Using the local hemostatic agent «Gemohit» in the form of a bandage is more promising in terms of convenience and effectiveness than the use of powder.

Keywords: external bleeding, local haemostatic agent, chitosan, hemohit, hemohit-bandage, vascular injury, hemostasis, primary care, injury of the artery.

Контактный телефон: +7-981-860-63-37; e-mail: vmeda-nio@mil.ru