

УДК 616.36-001-005.1-092:616.153.962.4:615.273.52

Влияние экзогенного фибрин-мономера на гемостатический потенциал и фибринообразование в области дозированной травмы печени на фоне введения гепарина в эксперименте

Момот А.П.^{1,2}, Вдовин В.М.², Орехов Д.А.³, Бобров И.П.², Шахматов И.И.², Момот Д.А.², Белозерская Г.Г.⁴, Кузнецова Д.В.², Чернущ В.Е.², Теряев В.В.²

¹ Алтайский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40

³ Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Алтайский краевой кардиологический диспансер».

656055, г. Барнаул, ул. Малахова, д. 46

⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4

Актуальность. В проведенных ранее исследованиях на «гепариновой» модели посттравматической кровопотери был продемонстрирован гемостатический эффект экзогенно вводимого фибрин-мономера (ФМ) (доза 0,25 мг/кг), сопоставимый по выраженности с применением протамина сульфата (ПС), что не получило своего объяснения из-за отсутствия данных морфологического исследования в зоне травмы печени.

Цель. Сопоставить гемостатические, гемостазиологические и морфологические последствия использования ФМ, при его внутривенном введении в дозе 0,25 мг/кг, у гепаринизированных животных, после дозированной травмы печени.

Материалы и методы. На 77 здоровых кроликах породы «Шиншилла» моделировали гипокоагуляцию нефракционированным гепарином (НГ) в/в в дозе 150 ед/кг. Профилактику интраоперационных кровотечений осуществляли введением ФМ в/в в дозе 0,25 мг/кг, за один час до травмы, и ПС в/в в дозе 1,5 мг/кг за 10 мин до травмы. После нанесения дозированной травмы печени кровопотерю оценивали в % от объема циркулирующей крови. Исследовали также содержание тромбоцитов в крови, активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), уровень фибриногена и количество D-димера, параметры калиброванной тромбوغрафии. Ткани печени в области раневой поверхности для гистологических исследований получали после спонтанной остановки кровотечения.

Результаты. Гепаринизированным животным была свойственна повышенная кровопотеря на фоне выраженной гипокоагуляции и снижения генерации тромбина. Применение антидота НГ – ПС, минимизировало потерю крови (снижение кровопотери в 4,0 раза по сравнению с плацебо) и приводило к восстановлению гемостатического потенциала. Согласно морфологическим исследованиям, это достигалось увеличением толщины тромбоцитарных масс (в 15,1 раза по сравнению с плацебо). В не меньшей степени гемостатический эффект был достигнут при замене ПС на ФМ (уменьшение кровопотери в 5,1 раза по сравнению с плацебо). Данные эффекты не сопровождалась коррекцией гипокоагуляционного сдвига и восстановлением генерации тромбина. В последнем случае определено меньшее по выраженности фибринообразование в зоне травмы (толщина фибрина 55,2 мкм против 201,8 мкм при применении ПС; $p < 0,001$). Еще одной отличительной особенностью явилось отсутствие фибриллярной структуры фибрина и наличие в тромбоцитарных массах многочисленных тромбоцитов, тогда как их число в просветах сосудов рядом с раневой поверхностью было минимальным.

Заключение. Приведенные данные позволяют обозначить возможные механизмы и пути остановки посттравматического кровотечения при использовании гепарина.

Ключевые слова: фибрин-мономер; нефракционированный гепарин; протамина сульфат; посттравматическое кровотечение; гемостатический эффект; образование фибрина.

Для цитирования: Момот А.П., Вдовин В.М., Орехов Д.А., Бобров И.П., Шахматов И.И., Момот Д.А., Белозерская Г.Г., Кузнецова Д.В., Чернущ В.Е., Теряев В.В. Влияние экзогенного фибрин-мономера на гемостатический потенциал и фибринообразование в области дозированной травмы печени на фоне введения гепарина в эксперименте. Патогенез. 2020; 18(4): 32-42.

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.04.32-42

Для корреспонденции: Момот Андрей Павлович, e-mail: xuzan@yandex.ru.

Финансирование: Исследование выполнено за счёт средств гранта РФФИ (№ 18-415-220001), при финансовой поддержке ООО фирмы «Технология-Стандарт» и ФГБОУ ВО АГМУ МЗ России.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 23.08.2020

Effect of an exogenous fibrin monomer on hemostatic potential and fibrin formation in the area of controlled liver injury on the background of heparin administration in experiment

Momot A.P.^{1,2}, Vdovin V.M.², Orekhov D.A.³, Bobrov I.P.², Shakhmatov I.I.², Momot D.A.², Belozerskaya G.G.⁴, Kuznetsova D.V.², Chernus' V.E.², Teryaev V.V.²

¹ Altai Branch of National Research Center for Hematology, Lyapidevskogo Str. 1, Barnaul 656045, Russian Federation

² Altai State Medical University, Prospekt Lenina 40, Barnaul 656038, Russian Federation

³ Altai Regional Cardiology Dispensary, Malakhova Str. 46, Barnaul 656055, Russian Federation

⁴ National Research Center for Hematology, Novy Zykovsky Proezd 4, Moscow, 125167, Russian Federation

Background. In previous studies using the heparin model of post-traumatic blood loss, a hemostatic effect of exogenous fibrin monomer (FM) (0.25 mg/kg) was observed, which was comparable in intensity to the effect of protamine sulfate (PS) and remained unexplained due to the lack of morphological study data for the area of liver injury.

Aim. To compare hemostatic, hemostasiological, and morphological consequences of intravenous administration of FM 0.25 mg/kg following controlled liver injury in heparinized animals.

Methods. Hypocoagulation was simulated by i.v. administration of unfractionated heparin (UFH) 150 U/kg to 77 healthy Chinchilla rabbits. Intraoperative bleeding was prevented by i.v. administration of FM 0.25 mg/kg one hour prior to the injury or PS 1.5 mg/kg 10 minutes prior to the injury. After the controlled liver injury, blood loss was measured and expressed in % of the circulating blood volume. Blood platelet count, activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen concentration, D-dimer concentration, and data of calibrated thrombography were also studied. Samples of liver tissue from the wound surface area were collected for histology after spontaneous arrest of bleeding.

Results. Heparinized animals were characterized by increased blood loss due to pronounced hypocoagulation and decreased thrombin production. The use of the UFH antidote, PS, minimized the blood loss (by 75% compared to placebo) and resulted in restoration of the hemostatic potential. According to results of the morphological study, this effect was due to increased thickness of thrombotic masses (15.1 times compared to placebo). At least equal hemostatic effect was obtained when PS was replaced with FM (80% decrease in blood loss compared to placebo). These effects were not associated with correction of the hypocoagulation shift or recovery of the thrombin generation. In this process, fibrin formation in the injury area was less pronounced (fibrin thickness 55.2 μm vs 201.8 μm with PS; $p < 0.001$). Another distinctive feature was the absence of the fibrillar structure of fibrin and the presence of numerous platelets in thrombotic masses while the platelet number in the lumen of blood vessels near the wound surface was minimal.

Conclusion. The study results allow identifying possible mechanisms and ways to stop post-traumatic bleeding when heparin is used.

Keywords: fibrin monomer; unfractionated heparin; protamine sulfate; post-traumatic bleeding; hemostatic effect; fibrin formation.

For citation: Momot A.P., Vdovin V.M., Orekhov D.A., Bobrov I.P., Shakhmatov I.I., Momot D.A., Belozerskaya G.G., Kuznetsova D.V., Chernus' V.E., Teryaev V.V. [Effect of an exogenous fibrin monomer on hemostatic potential and fibrin formation in the area of controlled liver injury on the background of heparin administration in experiment]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020; 18(4): 32-42. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.04.32-42

For correspondence: Momot Andrey Pavlovich, e-mail: xyzan@yandex.ru.

Funding: The study was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (#18-415-220001), Technology-Standard Ltd, Altai State Medical University (ASMU).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 23.08.2020

Введение

Представления о системе гемостаза, как о каскадном механизме свёртывания крови, ключевую роль в котором играют тромбин и фибриноген, в течение последних десятилетий претерпели значительные изменения [1, 2]. Одним из основных посылов к пересмотру классической теории А.А. Шмидта и П.О. Моравица послужило наличие большого числа не разрешенных до настоящего времени вопросов регуляции этой сложной системы. Прежде всего, это проявляется в попытках интерпретации исследователями механизмов остановки кровотечения в условиях *in vivo* [3].

Значительно модифицирует классическую схему свертывания крови развитие современной теории клеточ-

ной модели гемокоагуляции [4-6], а также новые представления об особенностях пространственной регуляции тромбино- и фибриногенеза в условиях *in vitro* [7]. В свете данных событий проведенные в нашей лаборатории исследования гемостатической активности фибрин-мономера (ФМ) позволяют констатировать наличие у данного производного фибриногена регулирующего действия на процесс свёртывания крови в экспериментах *in vivo* [8, 9].

ФМ (структурно – дезААВВ-фибриноген), как известно, представляет собой продукт протеолитического расщепления фибриногена тромбином (фактор IIa), главная функция которого, заключается в образовании основы тромба или сгустка фибрина [10-12]. В представленных нами ранее работах показано, что экзогенно

введенный ФМ проявляет свою системную гемостатическую активность в дозе 0,25 мг/кг, что не превышает содержание данного белка в плазме крови эндогенного происхождения. При этом установлено, что системное применение ФМ не сопровождается усилением гемостатических реакций в системном кровотоке (по данным рутинной коагулограммы, тромбоэластографии и калиброванной тромбографии) [8]. По данным морфологических исследований было найдено, что следствием системного введения ФМ является усиление фибринообразования в области раневой поверхности при формировании дозированной травмы печени [13]. Эти наблюдения документировались увеличением толщины тромботических масс на раневой поверхности – по медиане, в 4,8 раза, и нитей фибрина – в 2,0 раза, по сравнению с морфологической картиной в группе с плацебо.

Отметим также, что системные гемостатические эффекты ФМ в ранее проведенных экспериментах *in vivo* наблюдались не только у интактных животных, но также в полной мере проявляли себя при прямом ингибировании тромбина дабигатрана этексилатом [14], при витамин К-зависимом дефиците факторов свёртывания крови на фоне приема варфарина [15] и гепаринизации с применением НГ [16].

В последнем случае гемостатические эффекты экзогенного ФМ были сопоставимы с последствиями ис-

пользования известного антидота гепарина – протамина сульфата (ПС) [17], хотя и при парадоксально различной картине результатов исследования гемостазиологических параметров *in vitro* [16].

По понятным причинам нас интересовало объяснение механизма данного феномена, путь к которому может лежать, в том числе, через морфологическое исследование особенностей фибринообразования в области травматического повреждения одного из жизненно важных органов. В связи с этим, **цель настоящего исследования** заключалась в сопоставлении гемостатических, гемостазиологических и морфологических последствий использования ФМ, при его внутривенном введении в дозе 0,25 мг/кг, у гепаринизированных животных, после дозированной травмы печени.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 77 здоровых половозрелых кроликах-самцах породы «Шиншилла» массой 3,0-4,5 кг, как наиболее подходящим видом биологических объектов для данного рода исследований [18].

Из животных были сформированы 4 экспериментальные группы (**рис. 1**).

Для исследования системы гемостаза и подсчета числа тромбоцитов у животных группы № 1 ($n = 21$) вы-

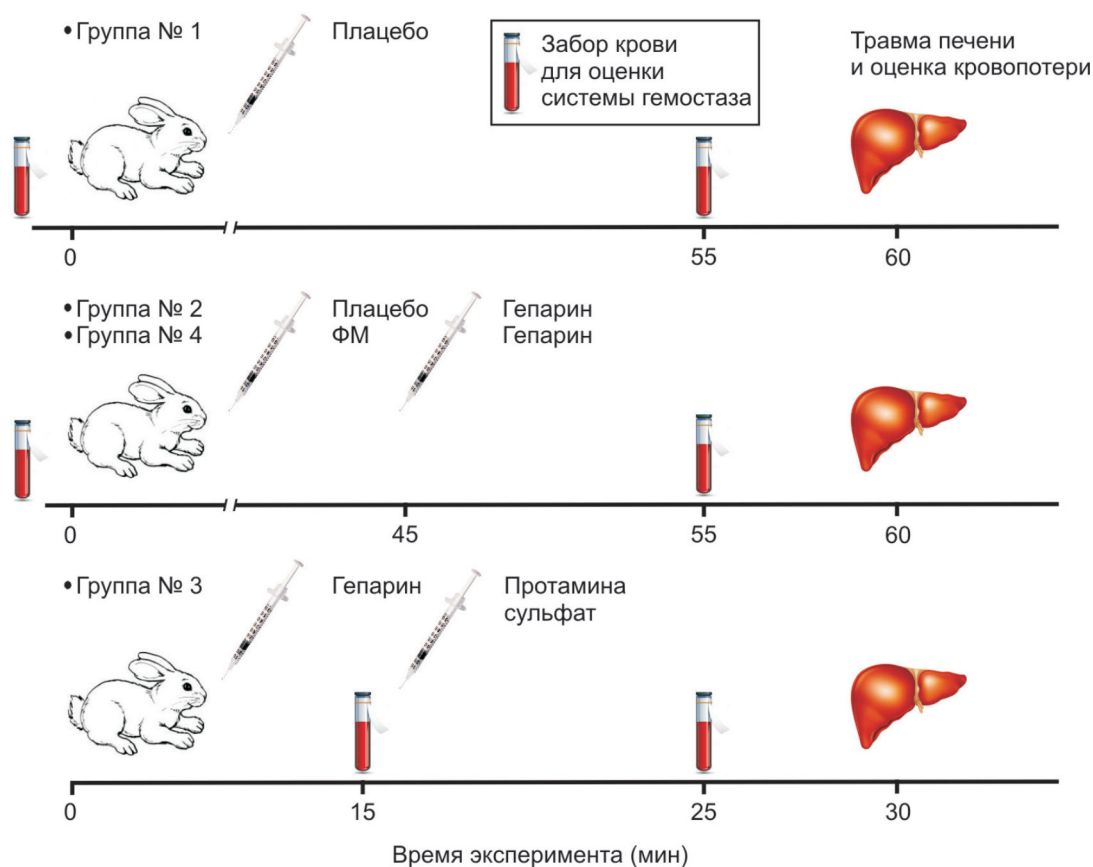


Рис. 1. Дизайн эксперимента. ФМ – фибрин-мономер.

полняли забор крови из краевой вены уха (самотеком), после флеботомии, не используя первые капли. После этого в неповрежденную вену уха (внутривенно, в/в) при помощи иглы-катетера «Cathy» (фирма «HMD») вводили водный раствор плацебо (3,75 М раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ), объемом 0,5 мл. Спустя 55 мин проводили повторный забор крови с последующей лапаротомией и нанесением стандартной травмы печени в соответствии с имеющимися рекомендациями [19].

Животным группы № 2 ($n = 17$) и № 4 ($n = 25$) аналогичным образом проводили забор крови с последующим введением водных растворов плацебо (в объеме 0,5 мл) и ФМ (в дозе 0,25 мг/кг) (производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия), соответственно. Через 45 мин в/в болюсно вводили раствор НГ в дозе 150 ед/кг (1,5 мг/кг) (фирма «Синтез», Россия). Через 10 мин от введения НГ проводили повторный забор крови и наносили травму печени.

Животным группы № 3 ($n = 14$) в/в болюсно вводили раствор НГ в дозе 150 ед./кг (1,5 мг/кг), после чего через 15 мин проводили забор крови и медленно в/в вводили ПС в дозе 1,5 мг/кг (фирма «Эллара», Россия). По истечении 10 мин осуществляли повторное взятие крови с последующим нанесением травмы печени. Всем животным перед хирургическим вмешательством проводили анестезию препаратом «Телазол» (фирма «Зоэ-тис», Россия) в/в в дозе 10 мг/кг.

После выполнения травмы печени у всех животных определяли с помощью стерильных марлевых салфеток характер паренхиматозного кровотечения – по расчетному объему кровопотери в % от объема циркулирующей крови (% ОЦК) с учетом массы тела животного [19, 20]. Животных выводили из эксперимента после полного прекращения кровотечения из раны, путем введения анестетика в летальной дозе (в 3–4 раза превышающей терапевтическую) [21].

Кровь, полученную из краевой вены уха, помещали в пробирки с соответствующими стабилизаторами: для подсчета числа тромбоцитов – с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (AQUISEL® КЗЕ/EDTA 3К, фирма «Aquisel S.L.», Испания), для изучения других параметров – с 0,11 М (3,8%) раствором цитрата натрия (соотношение крови и стабилизатора 9:1). Далее стабилизированную цитратом натрия кровь центрифугировали при 1200 г в течение 15 мин для получения обедненной тромбоцитами плазмы.

Исследование системы гемостаза включало в себя определение числа тромбоцитов в венозной крови на гематологическом анализаторе «Drew-3» (фирма «Drew Scientific Inc.», Великобритания-США), активированного парциального тромбопластинного времени свертывания (АПТВ), а также концентрации фибриногена – на коагулометре «Thrombostat 2» (фирма «Behnk Elektronik», Германия). Результаты оценки АПТВ были представлены в виде отношения, рассчитанного по формуле: $Ratio = BC_{опыт} / BC_{контроль}$, где: $Ra-$

tio – отношение; $BC_{опыт}$ – время свертывания в опытной плазме (с); $BC_{контроль}$ – время свертывания в контрольной плазме (с). Уровень D-димера в плазме крови оценивался при помощи тест-системы «Nycocard® D-Dimer» (фирма «Axis-Shield PoC AS», Норвегия) на анализаторе-рефлектометре «Nycocard Rader II». Интегральным методом исследования системы гемостаза была выбрана оценка генерации тромбина методом калиброванной автоматизированной тромбографии по Н.С. Hemker (2003) с использованием планшетного флюориметра «Fluoroskan Ascent» при длине волны 390 нм (фирма «ThermoFisher SCIENTIFIC», Финляндия), с программным обеспечением «Thrombinoscope™ 3.0.0.26» и наборами реагентов фирмы «Thrombinoscope® bv» (Нидерланды) («PPP-Reagent», «Thrombin Calibrator», «FluCa-Kit»). Коагуляция исследуемой плазмы крови осуществлялась в 96-луночном планшете типа «Immulon 2НВ» (фирма «ThermoFisher SCIENTIFIC», США). Учитывались следующие показатели теста: Lagtime – время инициации образования тромбина; ЕТР – эндогенный тромбиновый потенциал; Peak thrombin – пиковая концентрация тромбина; ttPeak – время достижения пиковой концентрации тромбина; V – скорость образования тромбина.

После остановки кровотечения для гистологического исследования у животных забирали ткань печени, включая всю раневую часть и фрагмент неповрежденной поверхности, с последующей фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина по Лилли. Проводку материала осуществляли по изопропиловому спирту с помощью автомата проводки карусельного типа «TISSUE-TEK VI PTM6» (фирма «Sakura», Япония). Парафинизацию проводили при помощи станции парафиновой заливки «TISSUE-TEK TEC 5» (фирма «Sakura», Япония). Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм получали с использованием полуавтоматического роторного микротом «Accu-Cut SRM» (фирма «Sakura», Япония), препараты окрашивали гематоксилином и эозином в автомате для автоматической окраски микропрепаратов «TISSUE-TEK Prisma» (фирма «Sakura», Япония) и заключали под плёнку в автомате для автоматического заключения микропрепаратов «TISSUE-TEK Film» (фирма «Sakura», Япония). Для определения морфологической структуры фибрина в тканях окраску подготовленных срезов проводили методом ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой) по Д.Д. Зербино и Л.Л. Лукаевич [22] с применением набора реагентов для определения возраста фибрина (фирма ООО «БВС», Россия). Подсчет количества тромбоцитов при морфологических исследованиях осуществляли в крупных сосудах венозного или артериального типа, в пяти полях зрения при увеличении $\times 1000$, под масляной иммерсией микроскопа с последующим расчётом среднего числа клеток. Морфометрические измерения проводили с помощью лицензионного пакета морфометрических программ «ВидиоТест – Морфология 5.2» (фирма «ВидиоТест», Россия).

Работы на животных, одобренные локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО АГМУ МЗ РФ (прото-

кол № 12 от 12.11.2015 г.), проводили в соответствии с Директивой 86/609/ЕЕС, Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работа с использованием экспериментальных животных».

Распределение признаков в выборках оценивали по критерию Шапиро-Уилки. В зависимости от распределения признаков применяли *t*-критерий Стьюдента, *U*-критерий Манна-Уитни или *W*-критерий Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием статистической программы MedCalc Version 17.9.7 (лицензия BU556-P12YT-BBS55-YAH5M-UBE51). Результаты представлены в виде медианы (*Me*), 25-го и 75-го перцентилей (*Q*): $Me [Q25 \div Q75]$.

Результаты исследования

В нашем предыдущем исследовании, посвященном оценке гемостатического действия ФМ, констатирована эффективность данного производного фибриногена для минимизации посттравматического кровотечения у исходно гепаринизированных животных, сопоставимая с результатами применения ПС [16]. В этой же статье опубликован ряд данных, касающихся особенностей гемостазиологических реакций у вышеприведенных групп экспериментальных животных. Мы посчитали возможным в данной статье частично воспроизвести их, дополнив результатами оценки количества D-димера в плазме крови и параметров калиброванной тромбографии, с указанием исходных значений всех исследованных показателей до применения плацебо, ФМ или ПС.

Было ожидаемо, что в группах животных, получавших НГ (группы №№ 2-4) до нанесения травмы печени в плазме крови выявлялась выраженная гипокоагуляция, проявленная увеличением отношения АПТВ (в 4,8 – 6,6 раза) и прекращением регистрации показателей калиброванной тромбографии (**табл. 1**). Наряду с этим, в ответ на введение НГ (в группе №2) отмечено снижение количества тромбоцитов в крови (на 20%) и концентрации фибриногена (на 30%) в сравнении с исходными значениями в данной группе животных. Отметим, что объем кровопотери у животных обозначенной группы, был наибольшим – в 1,9 раза превышал аналогичный показатель в группе №1 (**табл. 2**).

Ожидается и то, что антикоагулянтное действие НГ было полностью нейтрализовано введением ПС (группа №3), о чем свидетельствует нормализация АПТВ и восстановление возможности регистрации параметров калиброванной тромбографии (по показателям: Lagtime, ETP, Peak thrombin, ttPeak и V), которые оказались сопоставимыми с их уровнем до и после введения плацебо (группа №1). В этой же экспериментальной группе, с применением ПС, зафиксировано увеличение концентрации фибриногена (на 20%) и уровня D-димера (в 2,0 раза), в сравнении с исходными значениями в данной группе наблюдений (**табл. 1**). Приведенные

данные объясняют значительное снижение посттравматической кровопотери у гепаринизированных животных после применения ПС (в 4,0 раза в сравнении с плацебо) – **табл. 2**.

Наряду с ПС у гепаринизированных животных системную гемостатическую активность проявил и ФМ при его внутривенном введении в дозе 0,25 мг/кг. Это иллюстрировалось уменьшением объема кровопотери в 5,1 раза (в сравнении с группой плацебо) – см. **табл. 2**. При этом в коагулограмме у животных данной группы оставалась гипокоагуляция и резкое снижение интенсивности генерации тромбина (**табл. 1**).

Для оценки морфологических проявлений последствий применения средств, обладающих системным гемостатическим действием (ПС и ФМ), были исследованы гистологические срезы области операционной раны печени, полученные после спонтанной остановки раневого кровотечения.

В группе плацебо (группа №1) в области операционной раны печени макроскопически определялись тонкие, гладкие, розоватого цвета, блестящие тромботические массы. При морфометрии толщина наложений составила около 66 мкм (**табл. 3, рис. 2, А**). При микроскопическом исследовании тромботические наложения содержали тонкие нити фибрина (показаны стрелками на **рис. 2, Б**) и неизмененные эритроциты. Нити фибрина в тромботических массах располагались преимущественно параллельно поверхности печени, образуя редкие анастомозы. В ткани печени в области повреждения отмечали расширенные синусоидные капилляры, в которых были видны скопления эритроцитов, границы между которыми были четко видны. В просветах крупных сосудов в непосредственной близости от раневой поверхности отмечались скопления тромбоцитов (показаны стрелками на **рис. 2, В**) и их число составляло около 73 штук в поле зрения.

В зоне травмы печени у животных, получивших гепарин и плацебо (группа №2), тромботические массы определялись в небольшом количестве и характеризовались небольшой толщиной – в 4,9 раза меньше, чем в группе №1 (показано на **рис. 3, А**) (**табл. 3**).

Фибрин в геморрагических массах определялся лишь в некоторых местах в виде различного размера бесструктурных, мелкосетчатых и гранулярных масс красноватого или сиреневого цвета, выпадение фибриллярного нитчатого строения фибрина было нехарактерно. Также в массах определялись неагрегированные эритроциты и умеренное количество тромбоцитов. В области повреждения печени синусоидные капилляры были расширены, эритроциты в них находились в состоянии гемолиза, границы между ними были видны не четко (**рис. 3, Б**). Количество тромбоцитов в просветах крупных сосудов в непосредственной близости к раневой поверхности (показаны стрелками на **рис. 3, В**) превышало аналогичный показатель группы №1 в 1,6 раза (**табл. 3**).

В группе №3 у гепаринизированных животных после применения ПС макроскопически в области опе-

Таблица 1.

Показатели системы гемостаза в экспериментальных группах животных

Показатели	Группа №1 (n = 21)		Группа №2 (n = 17)		Группа №3 (n = 14)		Группа №4 n = 25)	
	до введения плацебо ^(1a)	после введения плацебо ^(1б)	до введения плацебо и гепарина ^(2a)	после введения плацебо и гепарина ^(2б)	после введения гепарина ^(3a)	после введения гепарина и ПС ^(3б)	до введения ФМ и гепарина ^(4a)	после введения ФМ и гепарина ^(4б)
Число тромбоцитов, ×10 ⁹ /л	477,5 [405,8÷621,5]	480,5 [412,3÷555,0] $p_{1a-1б}=0,151$	470,5 [386,0÷538,5]	403,0 [326,5÷498,5] $p_{2a-2б}=0,0008$ $\Delta \times 1,2$	467,0 [404,0÷618,5]	479,0 [409,0÷599,5] $p_{3a-3б}=0,872$	440,0 [360,5÷514,8]	430,0 [350,0÷532,0] $p_{4a-4б}=0,659$
АПТВ, отношение	1,1 [1,0÷1,2]	1,1 [0,9÷1,2] $p_{1a-1б}=0,248$	1,1 [0,9÷1,3]	7,2 [5,7÷10,5] (н.с. в 4 случаях) $p_{2a-2б}=0,0004$ $\Delta \times 6,6$	5,5 [4,8÷7,1] (н.с. в 4 случаях)	0,9 [0,9÷1,0] $p_{3a-3б}=0,0009$ $\Delta \times 6,1$	1,1 [0,9÷1,3]	5,3 [3,6÷9,7] (н.с. в 6 случаях) $p_{4a-4б}=0,003$ $\Delta \times 4,8$
Фибриноген, г/л	3,3 [2,8÷4,4]	3,7 [2,8÷4,5] $p_{1a-1б}=0,811$	3,9 [3,3÷5,0]	3,0 [2,9÷4,7] $p_{2a-2б}=0,010$ $\Delta \times 1,3$	3,7 [3,2÷4,0]	4,5 [3,7÷4,8] $p_{3a-3б}=0,010$ $\Delta \times 1,2$	3,2 [2,5÷3,7]	3,2 [2,8÷3,6] $p_{4a-4б}=0,887$
Д-димер, нг/мл	100,0 [100,0÷100,0]	100,0 [100,0÷200,0] $p_{1a-1б}=0,201$	100,0 [100,0÷200,0]	100,0 [100,0÷100,0] $p_{2a-2б}=0,198$	100,0 [100,0÷100,0]	200,0 [100,0÷1425,0] $p_{3a-3б}=0,018$ $\Delta \times 2,0$	100,0 [100,0÷162,5]	100,0 [100,0÷100] $p_{4a-4б}=0,208$
Тромбограмма (калиброванная автоматизированная тромбография)								
Lagtime, мин	2,2 [2,0–2,7]	2,0 [1,8–2,7] $p_{1a-1б}=0,068$	2,7 [2,2–2,7]	н.р.	н.р.	2,3 [2,3–2,3]	2,0 [2,0–2,2]	н.р.
ЕТР, нмоль×мин	373,9 [338,7–500,4]	484,8 [360,6–622,5] $p_{1a-1б}=0,224$	339,5 [316,9–351,9]	н.р.	н.р.	307,6 [207,8–315,7]	326,3 [256,5–370,8]	н.р.
Peak thrombin, нмоль	76,2 [40,7–90,9]	81,7 [34,3–138,8] $p_{1a-1б}=0,128$	42,7 [40,6–52,1]	н.р.	н.р.	52,8 [40,0–62,1]	41,3 [37,1–57,4]	н.р.
ttPeak, мин	5,8 [5,0–7,3]	5,4 [4,6–6,3] $p_{1a-1б}=0,143$	6,3 [6,2–7,2]	н.р.	н.р.	5,0 [4,7–5,2]	5,7 [4,8–5,8]	н.р.
V, нмоль/мин	25,3 [9,2–29,1]	26,8 [7,8–62,2] $p_{1a-1б}=0,102$	11,1 [8,1–14,4]	н.р.	н.р.	22,6 [13,3–24,8]	13,1 [13,1–15,6]	н.р.

Примечания: p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей (сравниваемые группы указаны в нижнем индексе); ПС – протамина сульфат; ФМ – фибрин-мономер; н.р. – нет регистрации; н.с. – нет свертывания; Δ – разница показателей.

Таблица 2.

Объем посттравматической кровопотери у животных в разных экспериментальных группах

Показатель	Группа №1 После введения плацебо	Группа №2 После введения плацебо и гепарина	Группа №3 После введения гепарина и ПС	Группа №4 После введения ФМ и гепарина
Объем кровопотери, % от ОЦК	10,1 [4,3÷16,3]	18,9 [8,5÷21,8] $p_{1-2}=0,028, \Delta \times 1,9$	4,7 [3,0÷8,5] $p_{2-3}=0,0002, \Delta \times 4,0;$ $p_{1-3}=0,126$	3,7 [2,5÷5,2] $p_{2-4}=0,00003, \Delta \times 5,1;$ $p_{3-4}=0,341;$ $p_{1-4}=0,011, \Delta \times 2,7$

Примечания: p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей (сравниваемые группы указаны в нижнем индексе); ПС – протамина сульфат; ФМ – фибрин-мономер; Δ – разница показателей.

рационной раны определялись грубые, толстые бугристые наложения тромботических масс. Толщина тромботических наложений в 3,1 раза превышала аналогичный показатель в группе №1 и в 15,1 – в группе №2 (показано на рис. 4, А) (табл. 3). Фибрин в боль-

шинстве случаев имел вид гранулярных масс сиреневого или красноватого цвета различного размера. Отложения фибрина в виде продольно расположенных тонких нитей определялись лишь на небольшом количестве участков. В геморрагических массах значитель-

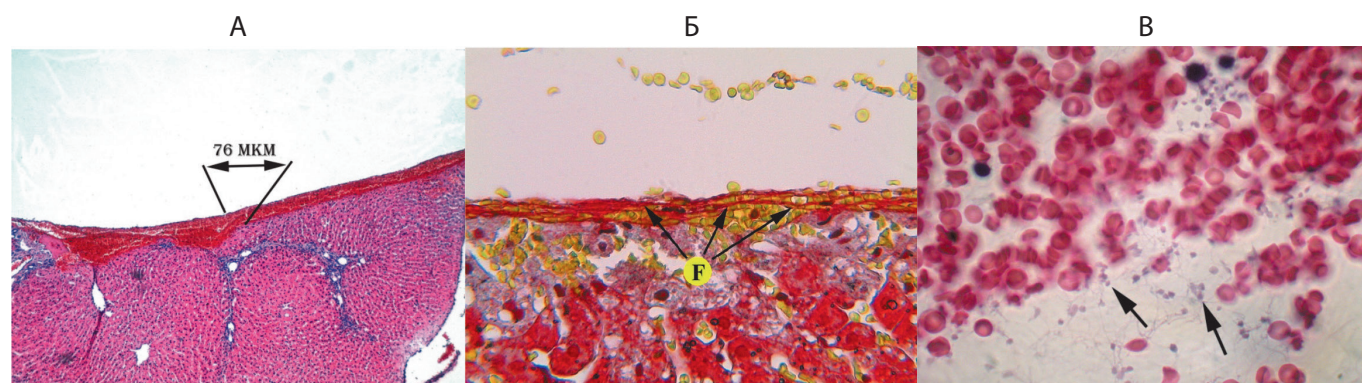


Рис. 2. Морфологическая картина раны печени кролика группы №1 (плацебо) после остановки кровотечения: А – тромботические наложения, окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 100$, Б – тонкие нити фибрина в геморрагических массах (показаны стрелками, F-фибрин), окраска по ОКГ на фибрин, ув $\times 400$, В – скопления тромбоцитов в просветах сосудов в области операционной раны (тромбоциты показаны стрелками), окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 1000$.

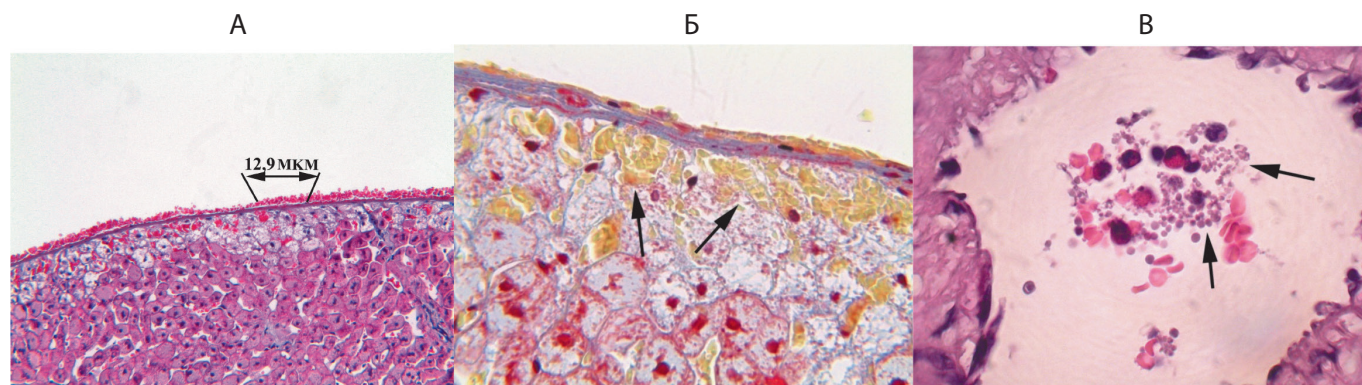


Рис. 3. Морфологическая картина раны печени кролика группы №2 (плацебо и гепарин) после остановки кровотечения: А – тонкие тромботические наложения, окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 100$; Б – отсутствие нитей фибрина в геморрагических массах и гемолизированные эритроциты в синусоидах (эритроциты показаны стрелками), окраска по ОКГ на фибрин, ув $\times 400$; В – увеличение числа тромбоцитов в просветах сосудов в области операционной раны (тромбоциты показаны стрелками), окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 1000$.

Таблица 3.

Показатели морфометрического исследования гистологических препаратов раны печени

Показатели	Группа №1 После введения плацебо	Группа №2 После введения плацебо и гепарина	Группа №3 После введения гепарина и ПС	Группа №4 После введения ФМ и гепарина
Толщина тромботических масс, мкм	66,2 [62,7–83,5]	13,4 [11,0–15,1] $p_{1-2} < 0,0001, \Delta \times 4,9$	201,8 [192,9–223,7] $p_{2-3} < 0,0001, \Delta \times 15,1;$ $p_{1-3} = 0,003, \Delta \times 3,1$	55,2 [45,1–65,9] $p_{2-4} < 0,0001, \Delta \times 4,1;$ $p_{3-4} < 0,0001, \Delta \times 3,7;$ $p_{1-4} = 0,003, \Delta \times 1,2$
Количество тромбоцитов, число/п.з.	73,5 [61,0–90,8]	119,0 [88,5–137,0] $p_{1-2} = 0,028, \Delta \times 1,6$	70,0 [58,0–73,0] $p_{2-3} = 0,013, \Delta \times 1,7;$ $p_{1-3} = 0,348$	45,5 [33,8–56,0] $p_{2-4} = 0,002, \Delta \times 2,6;$ $p_{3-4} = 0,030, \Delta \times 1,5;$ $p_{1-4} = 0,006, \Delta \times 1,6$

Примечания: *p* – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей (сравниваемые группы указаны в нижнем индексе); п.з. – поле зрения, Δ – разница показателей.

ное количество эритроцитов находилось в состоянии гемолиза, они имели различную форму, с нечёткими границами между клетками. В расширенных синусоидах зоны травмы печени эритроциты были распределены агрегированными группами или в виде монетных столбиков (явление стаза и «сладж-феномена»), с нечёткими границами между ними (эритроциты показаны стрелками на **рис. 4, Б**). Количество тромбоцитов в просветах крупных сосудов в непосредственной близости к раневой поверхности (показаны стрелками на **рис. 4, В**) было умеренным, сопоставимым с группой плацебо (группа №1).

После применения ФМ у гепаринизированных животных (группа №4) в зоне травмы печени определялось умеренное количество тромботических масс (показано на **рис. 5, А**), примерно сопоставимое по толщине с группой №1 (в 1,2 раза меньше), но в 4,1 раза превышало аналогичный показатель группы №2 (**табл. 3**). В тромботических массах определялся фибрин в виде различного размера мелкосетчатых и гранулярных масс красноватого или сиреневого цвета, среди которого на-

ходились агрегированные эритроциты. Выпадение фибрина фибриллярного строения было не характерно, отмечались лишь единичные его нити. Отличительной особенностью данной группы было наличие в тромботических массах большого количества тромбоцитов. При этом в крупных сосудах рядом с раневой поверхностью количество тромбоцитов значительно уменьшалось (в 2,6 раза) (показаны стрелками на **рис. 5, В**) по сравнению с группой №2 и группой №1 (в 1,6 раза) (**табл. 3**). Эритроциты в расширенных синусоидах печени находились в состоянии гемолиза, с нечёткими границами между ними (показаны стрелками на **рис. 5, Б**).

Обсуждение

Полученные в настоящей работе результаты оценки кровопотери в сопоставлении с параметрами системы гемостаза и данными морфологического исследования раневой поверхности печени позволили выявить следующие закономерности.

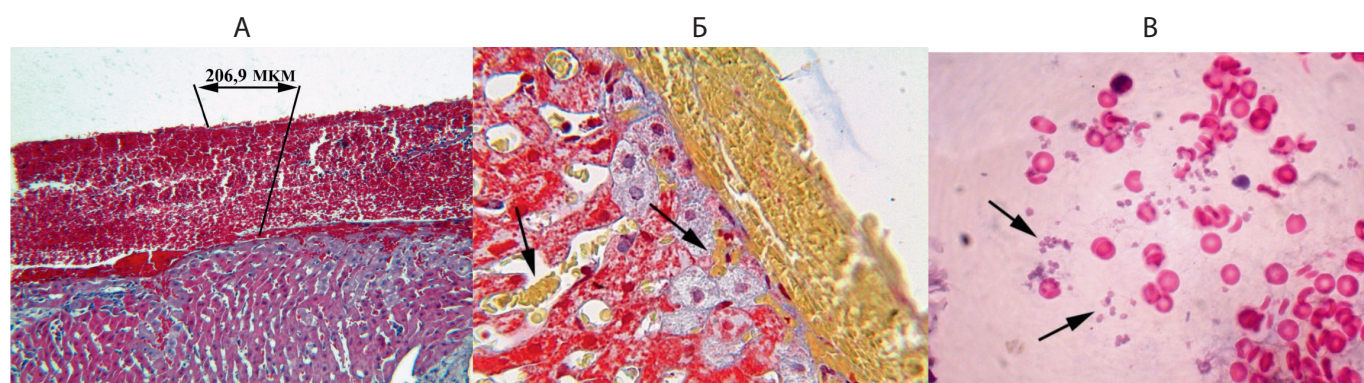


Рис. 4. Морфологическая картина раны печени кролика группы №3 (ПС и гепарин) после остановки кровотечения: А – широкие тромботические наложения, окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 100$; Б – отсутствие нитей фибрина и гемолизированные эритроциты в синусоидах в виде монетных столбиков (показаны стрелками), окраска по ОКГ на фибрин, ув $\times 400$; В – умеренное количество тромбоцитов в просветах сосудов в области операционной раны (тромбоциты показаны стрелками), окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 1000$.

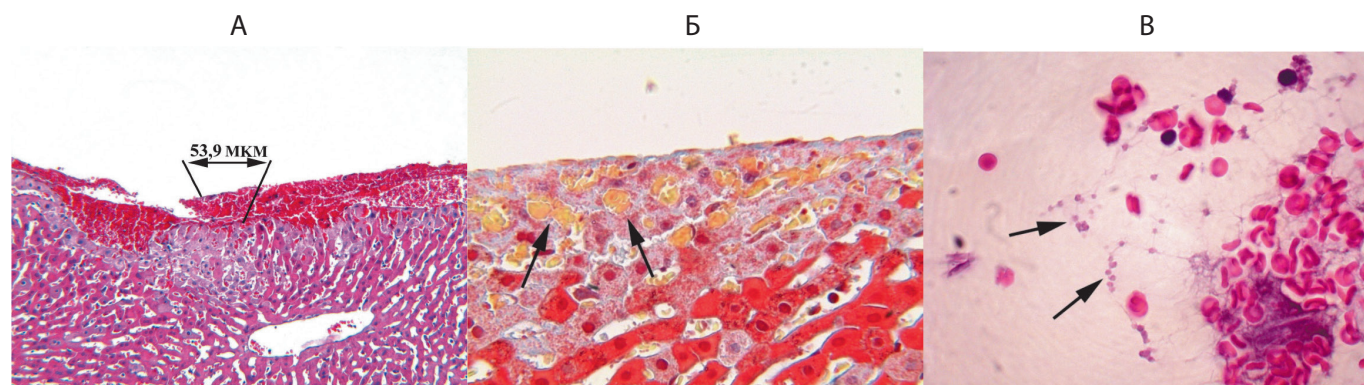


Рис. 5. Морфологическая картина раны печени кролика группы №4 (ФМ и гепарин) после остановки кровотечения: А – умеренно выраженные тромботические наложения в области повреждения, окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 100$; Б – отсутствие нитей фибрина и скопления гемолизированных эритроцитов в синусоидах (показаны стрелками), окраска по ОКГ на фибрин, ув $\times 400$; В – уменьшения числа тромбоцитов в просветах сосудов в области операционной раны (тромбоциты показаны стрелками), окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 1000$.

Физиологическую гемостатическую реакцию мы наблюдали в группе №1, где животные перед дозированной травмой получали плацебо. В этом случае остановка кровотечения сопровождалась образованием на раневой поверхности фибриллярных нитей фибрина с умеренным включением в них тромбоцитов и неизменных эритроцитов. Отметим также, что введение плацебо не оказывало какого-либо влияния на параметры коагулограммы и генерацию тромбина в плазме крови.

Декомпенсированная гемостатическая реакция фиксировалась у гепаринизированных животных в группе №2 (летальность от кровопотери 35,3% [16]). Повышенная кровопотеря в данном случае ассоциировалась с многократным уменьшением толщины тромбоцитарных масс в районе травмы (по сравнению с группой плацебо), а также снижением встречаемости нитей фибрина, имеющих фибриллярную структуру. По всей видимости, остановка кровотечения у таких животных осуществлялась преимущественно за счет тромбоцитарных реакций. На это указывало сочетание увеличения количества тромбоцитов, наряду с гемолизированными эритроцитами (источником АДФ) – в просветах сосудов, в непосредственной близости к раневой поверхности, со снижением числа тромбоцитов в венозном кровотоке. Усиление кровопотери у данных животных происходило на фоне выраженной гипокоагуляции и снижения интенсивности образования тромбина по данным калиброванной тромбографии.

Компенсированная гемостатическая реакция определялась у животных группы №3, получивших НГ, который был нейтрализован ПС. В данной группе объем кровопотери не превышал таковой в группе плацебо и при анализе морфологической картины в зоне травмы сочетался с максимальной толщиной тромбоцитарных масс, содержащих в своём составе эритроциты (в основном гемолизированные) и умеренное количество тромбоцитов. Количество тромбоцитов в просветах сосудов рядом с раневой поверхностью также было умеренным, что, в целом, позволяет объяснить уменьшение кровопотери коагуляционными механизмами, завершающиеся переходом фибриногена в фибрин. Об этом же говорит и усиление генерации тромбина в плазме крови таких животных, а также реверсия АПТВ и известные показатели тромбоэластометрии [16].

Другой вариант компенсированной гемостатической реакции наблюдался у животных группы №4, которые также получали НГ, но вместо ПС был использован фибрин-мономер в дозе 0,25 мг/кг (табл. 2). Вместе с тем морфологическая картина зоны повреждения имела существенные отличия от таковой в группе №3. В частности, толщина тромбоцитарных масс была значительно меньше и была сопоставима по значению с группой №1 (табл. 3). Наблюдаемый фибрин, как правило, не имел фибриллярную структуру, а в тромбоцитарных массах было отмечено наличие многочисленных тромбоцитов, тогда как их количество в просветах сосудов рядом с раневой поверхностью значительно уменьша-

лось. Там же наблюдались гемолизированные эритроциты. Ещё одной отличительной особенностью явилось отсутствие реверсии коагуляционных показателей при исследовании системы гемостаза и, прежде всего, восстановление генерации тромбина в плазме крови.

Заключение

Приведенные выше данные позволяют определить акценты или особенности механизмов остановки посттравматического кровотечения у исходно гепаринизированных животных. Можно видеть, что если в качестве антидота гепарина использовался ПС, то решающая роль отводилась коагуляционным реакциям системы свёртывания крови с образованием «мощного» раневого фибринового покрытия. В случаях же применения ФМ эффективный гемостаз обеспечивался на основе более активного участия в тромбировании поврежденных сосудов клеточного компонента крови (тромбоциты, гемолизированные эритроциты). Механизмы последнего явления пока не раскрыты, однако полагаем, что полученные данные открывают новые перспективы в области профилактики и лечения связанных с гепарином кровотечений.

Учитывая отсутствие видимого влияния низкой дозы ФМ (0,25 мг/кг) на гепарин-обусловленную гипокоагуляцию, целесообразно рассмотреть этого производного фибриногена в качестве препарата «шунтирующего» действия для остановки кровотечения наряду с известными в настоящее время системными гемостатиками – рекомбинантным фактором VIIa (эптаког альфа активированный), антиингибиторным коагулянтным комплексом (Feiba®), транексамовой кислотой, ингибитором антитромбина III (ALN-AT3) [23] и ингибитором тканевого пути активации свертывания – TFPI (Concizumab) [24, 25].

Список литературы

1. Кузник Б.И. *Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии*. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 832 с.
2. Кузник Б.И., Стуров В.Г., Левшин Н.Ю., Максимова О.Г., Кудлай Д.А. *Геморрагические и тромбоцитарные заболевания у детей и подростков*. Новосибирск: Наука, 2018. 524 с.
3. Папаян Л.П. Новое в представлении процесса свертывания крови. *Трансфузиология*. 2004; 5(1): 7-22.
4. Hoffman M., Monroe D.M. A Cell-based Model of Hemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001; 85: 958-965. DOI: 10.1055/s-0037-1615947
5. Hoffman M. Remodeling the blood coagulation cascade. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2003; 16(1-2): 17-20. <http://dx.doi.org/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28>
6. Hoffman M., Monroe D.M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* 2007; 21(1): 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2006.11.004>
7. Бутылин А.А., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Пространственная динамика свертывания крови. *Российский химический журнал*. 2007; LI(1): 45-50.
8. Момот А.П., Вдовин В.М., Шахматов И.И., Толстокоров И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О., Лычёва Н.А., Кудинов А.В., Белозерская Г.Г., Киселев В.И. Системные гемостатические и протромботические эффекты фибрин-мономера в эксперименте при дозированной травме печени. *Сибирский научный меди-*

- цинский журнал. 2019; 39(1): 6-12. DOI: 10.15372/SSMJ20190101
9. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстоколов И.Г., Шевченко В.О., Красюкова В.О., Шахматов И.И., Лычѳва Н.А., Белозерская Г.Г. Время-зависимые системные гемостатические эффекты фибрин-мономера при дозированной травме печени. *Казанский медицинский журнал*. 2019; 100(2): 257-263. DOI: 10.17816/KMJ2019-257
 10. Зубаиров Д.М. *Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования*. Казань: Фэн, 2000. 364 с.
 11. Луговской Э.В., Макогоненко Е.М., Комисаренко С.В. *Молекулярные механизмы образования и разрушения фибрина: физико-химический и иммунохимический анализ*. Киев: Наукова думка, 2013. 230 с.
 12. Weisel J.W., Litvinov R.I. Fibrin formation, structure, and properties. *Subcell.Biochem.* 2017; 82: 405-456. DOI: 10.1007/978-3-319-49674-0_13
 13. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Бобров И.П., Момот Д.А., Шахматов И.И., Красюкова В.О., Чернусь В.Е., Теряев В.В., Лычѳва Н.А., Москаленко С.В. Влияние экзогенного фибрин-мономера на гемостатический потенциал и образование фибрина в области дозированной травмы печени в эксперименте. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова*. 2020; 106(9): 1132-1143. DOI: 10.31857/S0869813920070092
 14. Вдовин В.М., Момот А.П., Красюкова В.О., Толстоколов И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Лычѳва Н.А. Системные гемостатические и гемостазиологические эффекты фибрин-мономера при прямом ингибировании тромбина в эксперименте. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова*. 2019; 105(2): 207-2015. DOI: 10.1134/S0869813919020109
 15. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстоколов И.Г., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Лычѳва Н.А., Красюкова В.О. Системные гемостатические и гемостазиологические эффекты низкой дозы фибрин-мономера на фоне действия варфарина в эксперименте. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2019; 3(79): 16-23. DOI: 10.25555/THR.2019.3.0885
 16. Момот А.П., Вдовин В.М., Орехов Д.А., Лычѳва Н.А., Толстоколов И.Г., Шевченко В.О., Красюкова В.О., Шахматов И.И. Профилактика массивных интраоперационных кровотечений, ассоциированных с гепарином, при системном применении фибрин-мономера в эксперименте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(4): 48-55. DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.48-55
 17. Чарная М.А., Клыпа Т.В., Морозов Ю.А., Шмерко Н.П., Гладышева В.Г., Андриянова А.А. Влияние протамина сульфата на систему гемостаза после операций в условиях искусственного кровообращения. *Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова*. 2007; 8: 17-20.
 18. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
 19. Хабриев Р.У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина, 2005. 832 с.
 20. Макаров В.Г. *Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных*. СПб.: ЛЕМА, 2013. 116 с.
 21. Копаладзе Р.А. Методы эвтаназии экспериментальных животных. Этика, эстетика, безопасность персонала. *Успехи физиологических наук*. 2000; 31(3): 79-90.
 22. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. *Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови: Факты и концепции*. М.: Медицина, 1989. 356 с.
 23. Sorensen B., Mant T., Akinc A., Simon A., Melton L., Lynam C., Strahs A., Sehgal A., Hutabarat R., Chaturvedi P., Barros S., Vaishnav A. A Subcutaneously Administered RNAi Therapeutic (ALN-AT3) Targeting Antithrombin for Treatment of Hemophilia: Interim Phase 1 Study Results in Healthy Volunteers and Patients with Hemophilia A or B. *Blood*. 2014; 124(21): 693. DOI: 10.1182/blood.V124.21.693.693
 24. Waters E.K., Sigh J., Friedrich U., Hilden I., Sorensen B.B. Concizumab, an anti-tissue factor pathway inhibitor antibody, induces increased thrombin generation in plasma from haemophilia patients and healthy subjects measured by the thrombin generation assay. *Haemophilia*. 2017; 23(5): 769-776. DOI: 10.1111/hae.13260
 25. Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Мосягин В.Д., Олефир Ю.В., Бондарев В.П. Основные направления по разработке и модификации препаратов для лечения гемофилии. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(4): 208-215. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-4-208-215

References

1. Kuznik B.I. [Cellular and molecular regulation mechanisms of hemostasis system in health and disease]. Chita: Ehkspress-izdatel'stvo, 2010/ 832 p. (in Russian)
2. Kuznik B.I., Sturov V.G., Levshin N.Ju., Maksimova O.G., Kudlaj D.A. [Hemorrhagic and thrombotic diseases in childhood and adolescence]. Novosibirsk: Nauka, 2018. 524 p. (in Russian)
3. Papajan L.P. [New in the idea of the blood clotting process]. *Transfuziologija [Transfusiology]*. 2004; 5(1): 7-22. (in Russian)
4. Butylin A.A., Monroe D.M. A Cell-based Model of Hemostasis. *Thromb. Haemost.* 2001; 85: 958-965. DOI: 10.1055/s-0037-1615947
5. Hoffman M. Remodeling the blood coagulation cascade. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2003; 16(1-2): 17-20. <http://dx.doi.org/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28>
6. Hoffman M., Monroe D.M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* 2007; 21(1): 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2006.11.004>
7. Butylin A.A., Pantelev M.A., Ataullakhanov F.I. [Spatial Dynamics of Blood Clotting]. *Rossiiskii himicheskii zhurnal [Russian Chemical Journal]*. 2007; L1(1):45-50. (in Russian)
8. Momot A.P., Vdovin V.M., Shakhmatov I.I., Tolstokorov I.G., Orekhov D.A., Shevchenko V.O., Lycheva N.A., Kudinov A.V., Belozerskaya G.G., Kiselev V.I. [Systemic hemostatic and prothrombotic effects of fibrin monomer in the experiment with controlled liver injury]. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal [Siberian Scientific Medical Journal]*. 2019; 39(1): 6-12. DOI: 10.15372/SSMJ20190101 (in Russian)
9. Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Krasnyukova V.O., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A., Belozerskaya G.G. [Time-dependent systemic hemostatic effects of fibrin monomer in case of a controlled liver injury]. *Kazanskii meditsinskii zhurnal [Kazan Medical Journal]*. 2019; 100(2): 257-263. DOI: 10.17816/KMJ2019-257 (in Russian)
10. Zubairov D.M. [Molecular basis of blood clotting and thrombus formation]. Kazan: Fen, 2000. 364 p. (in Russian)
11. Lugovskoj E.H.V., Makogonenko E.M., Komisarenko S.V. [Molecular mechanisms of fibrin formation and degradation: physicochemical and immunochemical analysis]. Kiev: Naukova dumka, 2013. 230 p. (in Russian)
12. Weisel J.W., Litvinov R.I. Fibrin formation, structure, and properties. *Subcell.Biochem.* 2017; 82: 405-456. DOI: 10.1007/978-3-319-49674-0_13
13. Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Bobrov I.P., Momot D.A., Shakhmatov I.I., Krasnyukova V.O., Chernus' V.E., Terjaev V.V., Lycheva N.A., Moskalenko S.V. [Effect of exogenous fibrin monomer on hemostatic potential and fibrin formation in the area of controlled liver injury in the experiment]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova [I.M. Sechenov Russian Physiological Journal]*. 2020; 106(9): 1132-1143. DOI: 10.31857/S0869813920070092 (in Russian)
14. Vdovin V.M., Momot A.P., Krasnyukova V.O., Tolstokorov I.G., Orekhov D.A., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A. [Systemic hemostatic and hemostasiological effects of the fibrin monomer with direct inhibition of thrombin in the experiment]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova [I.M. Sechenov Russian Physiological Journal]*. 2019; 105(2): 207-2015. DOI: 10.1134/S0869813919020109 (in Russian)
15. Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A., Krasnyukova V.O. [Systemic hemostatic and hemostasiological effects of fibrin monomer in low dose in experiment on the background of warfarin]. *Trombоз, gemostaz i reologiya [Thrombosis, Hemostasis and Rheology]*. 2019; 3(79): 16-23. DOI: 10.25555/THR.2019.3.0885 (in Russian)
16. Momot A.P., Vdovin V.M., Orekhov D.A., Lycheva N.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Krasnyukova V.O., Shakhmatov I.I. [Prevention of massive intraoperative bleedings associated with heparin with the systemic use of fibrin monomer in the experiment]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological*

- Physiology and Experimental Therapy*. 2019; 63(4): 48-55. DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.48-55 (in Russian)
17. Charnaja M.A., Klypa T.V., Morozov Ju.A., Shmerko N.P., Gladysheva V.G., Andrijanova A.A. [Impact of protamine sulfate on hemostasis system after operations with artificial circulation. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova [Pirogov Russian Journal of Surgery]*. 2007; 8: 17-20. (in Russian)]
 18. Mironov A.N. [*Guidelines for conducting preclinical studies of drugs*]. Part 1. M: Grif and K, 2012. 944 p. (in Russian)
 19. Khabriev R.U. [*Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances*]. Moscow: Meditsina, 2005. 832 p. (in Russian)
 20. Makarov V.G. [*Resource guide. Normal physiological, biochemical and biometric parameters in experimental animals*]. S-Petersburg: LEMA, 2013. 116 p. (in Russian)
 21. Kopaladze R. A. [Methods of euthanasia of experimental animals. Ethics, esthetics and personnel safety]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk [Advances in Physiological Sciences]*. 2000; 31(3): 79-90. (in Russian)
 22. Zerbino D.D., Lukasevich L.L. [*Disseminated intravascular coagulation: facts and concepts*]. Moscow: Meditsina, 1989. 356 p. (in Russian)
 23. Sorensen B., Mant T., Akinc A., Simon A., Melton L., Lynam C., Strahs A., Sehgal A., Hutabarat R., Chaturvedi P., Barros S., Vaishnav A. A Subcutaneously Administered RNAi Therapeutic (ALN-AT3) Targeting Antithrombin for Treatment of Hemophilia: Interim Phase 1 Study Results in Healthy Volunteers and Patients with Hemophilia A or B. *Blood*. 2014; 124(21): 693. DOI: 10.1182/blood.V124.21.693.693
 24. Waters E.K., Sigh J., Friedrich U., Hilden I., Sorensen B.B. Conzizumab, an anti-tissue factor pathway inhibitor antibody, induces increased thrombin generation in plasma from haemophilia patients and healthy subjects measured by the thrombin generation assay. *Haemophilia*. 2017; 23(5): 769-776. DOI: 10.1111/hae.13260
 25. Soldatov A.A., Avdeeva Zh.I., Mosjagin V.D., Olefir Ju.V., Bondarev V.P. [Main directions for the development and modification of preparations]. *Gematologija i transfuziologija [Hematology and Transfusiology]*. 2016; 61(4): 208-215. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-4-208-215 (in Russian)

Сведения об авторах:

Момот Андрей Павлович — доктор медицинских наук, профессор, директор Алтайского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <http://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

Вдовин Вячеслав Михайлович — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-4606-3627>

Орехов Дмитрий Андреевич — хирург Краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Алтайский краевой кардиологический диспансер»; <https://orcid.org/0000-0003-0644-6313>.

Бобров Игорь Петрович — доктор медицинских наук, старший научный сотрудник морфологической лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-9097-6733>

Шахматов Игорь Ильич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>

Момот Дмитрий Андреевич — ассистент кафедры факультетской терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-7692-5048>

Галина Геннадьевна Белозерская — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией патологии и фармакологии гемостаза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, <http://orcid.org/0000-0001-8620-153X>

Кузнецова Дарья Владимировна — доцент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-9504-4086>

Чернущев Владимир Евгеньевич — студент Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-0800-4906>

Теряев Вячеслав Витальевич — студент Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-5968-3246>