



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.4.028>



Попель Г.А., Моисеенко И.А.✉, Островский Ю.П., Жмайлик Р.Р., Колядко М.Г.
Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

Оценка системы первичного гемостаза в организме животных после имплантации сосудистых протезов в брюшную аорту

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Попель Г.А. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование статьи; Моисеенко И.А. – сбор и обработка материала, написание текста, редактирование статьи; Островский Ю.П. – редактирование статьи; Жмайлик Р.Р. – сбор и обработка материала; Колядко М.Г. – выполнение лабораторных исследований.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Подана: 26.09.2023

Принята: 11.12.2023

Контакты: i.mois_19@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить изменения в системе гемостаза организма животных с помощью метода ротационной тромбоэластометрии при протезировании брюшной аорты синтетическим и биологическим сосудистыми протезами.

Материалы и методы. Исследование проведено на самках беспородных белых свиней ($n=12$). Животные были распределены на 2 группы: 1-я группа – с имплантацией синтетического сосудистого протеза из дакрона, покрытого модифицированным желатином, 2-я группа – с имплантацией биологического сосудистого протеза, изготовленного из бычьего ксеноперикарда. В тестах EXTEM, INTEM анализировали следующие показатели: CT (clotting time), CFT (clot formation time), угол α и MCF (maximum clot firmness). В тесте FIBTEM оценивали значения A10 и MCF. Для оценки вклада тромбоцитов (PLT) в формирование сгустка определяли их количество в периферической крови и рассчитывали значение MCF PLT по формуле: $MCF\ PLT = MCF\ EXTEM - MCF\ FIBTEM$.

Результаты. У животных, которым был имплантирован биологический сосудистый протез из ксеноперикарда, отмечены более высокие значения времени свертывания крови и времени формирования сгустка в тестах EXTEM (на 14-е сутки $\Delta CT = 17,5$ с.; $p=0,041$) и INTEM (на 7-е сутки $\Delta CFT = 83,0$ с.; $p=0,005$; на 14-е сутки $\Delta CT = 69,0$ с.; $p=0,004$; на 21-е сутки $\Delta CT = 25,0$ с.; $p=0,037$), по сравнению с животными, у которых применяли синтетический протез. По результатам корреляционного анализа выявлена статистически значимая связь в значениях MCF PLT и угла α в тестах EXTEM ($p=0,276$; $p=0,032$) и INTEM ($p=0,274$; $p=0,034$). Кроме того, установлена статистически значимая корреляция между значениями MCF PLT и значениями MCF EXTEM ($p=0,290$; $p=0,025$). На протяжении всего периода наблюдения при применении биологического сосудистого протеза тромботических осложнений не наблюдали, а в группе с синтетическим протезом у 2 животных при выведении из эксперимента обнаружили полный тромбоз протеза в сроке 3 месяца после операции.

Заключение. Более высокие значения времени формирования сгустка в тестах EXTEM и INTEM при сохранении значений остальных параметров в пределах границ референтного интервала указывают на более медленное начало образования фибрина и, соответственно, на более низкую тромбогенность биологического сосудистого протеза, по сравнению с синтетическим сосудистым протезом.

Ключевые слова: ротационная тромбоэластометрия, аорта, свиньи, гемостаз, биологический сосудистый протез

Henadzi A. Popel, Ivan A. Maiseyenko✉, Yury P. Ostrovsky, Ruslan R. Zhmailik,
Marina G. Kaliadka
Republican Scientific and Practical Centre "Cardiology", Minsk, Belarus

Evaluation of Hemostatic System after Abdominal Aortic Replacement in Animals

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Henadzi A. Popel – study concept and design, materials processing, creating a program, editing; Ivan A. Maiseyenko – materials processing, text writing, editing; Yury P. Ostrovsky – editing; Ruslan R. Zhmailik – materials processing; Marina G. Kaliadka – performing laboratory tests.

Funding: the study had no sponsorship.

Submitted: 26.09.2023

Accepted: 11.12.2023

Contacts: i.mois_19@mail.ru

Abstract

Purpose. To evaluate changes in the hemostatic system of the animal body during abdominal aortic replacement with synthetic and biological vascular grafts using rotational thromboelastometry.

Materials and methods. The study was performed on female white pigs (n=12). The animals were divided into 2 groups: group 1 – implantation of a synthetic vascular graft made of Dacron coated with modified gelatin, group 2 – with implantation of a biological vascular graft made of bovine xenopericardium. In the EXTEM and INTEM tests, the following parameters were analyzed: CT (clotting time), CFT (clot formation time), α angle and MCF (maximum clot firmness). In the FIBTEM test, A10 and MCF values were evaluated. To evaluate the contribution of platelets to clot formation, the number of platelets in peripheral blood was measured and MCF PLT value was calculated using the formula: $MCF\ PLT = MCF\ EXTEM - MCF\ FIBTEM$.

Results. The results of this study show that in animals implanted with biological vascular graft from bovine xenopericardium, the values of clotting time and clot formation time in EXTEM (on day 14, $\Delta CT = 17.5\ s$; $p=0.041$) and INTEM (on day 7, $\Delta CFT = 83.0\ s$; $p=0.005$; on day 14, $\Delta CT = 69.0\ s$; $p=0.004$; on day 21, $\Delta CT = 25.0\ s$; $p=0.037$) tests were higher than in animals with synthetic vascular graft. According to the results of correlation analysis, a statistically significant relationship was revealed in the values of MCF PLT and angle α in the EXTEM ($p=0.276$; $p=0.032$) and INTEM ($p=0.274$; $p=0.034$) tests. In addition, a statistically significant correlation was established between the values of MCF PLT and the values of MCF EXTEM ($p=0.290$; $p=0.025$). There were no thrombotic complications in the group



of animals with biological vascular prosthesis, but in the group with synthetic vascular prosthesis, graft thrombosis was observed in two animals removed from the experiment at 3 months after surgery.

Conclusion. No thrombotic complications were observed during the whole period of experiment in pigs with implanted biological vascular graft.

Keywords: rotational thromboelastometry, biological vascular graft, aorta, pigs, hemostatic system, bovine xenopericardium

■ ВВЕДЕНИЕ

В реконструктивной хирургии магистральных артерий на протяжении последних 70 лет успешно применяются синтетические сосудистые протезы Dacron®, изготовленные из полиэтилентерефталата. Однако их применение сопряжено с риском инфекционных осложнений, которые наблюдаются у 1–6% пациентов после реконструктивных вмешательств на аорте и артериях [1]. Вместе с тем использование синтетических сосудистых графтов сопряжено с развитием тромбоза в силу повышенной тромбогенности из-за механических свойств и структуры поверхности материала, из которого изготовлен протез. Синтетические протезы также обладают способностью индуцировать гиперплазию интимы в зоне анастомоза [2]. К сожалению, ни один из разработанных в настоящее время образцов сосудистых протезов не обладает «идеальными» свойствами. По мнению авторов статьи, разработка биологического сосудистого протеза и применение его в клинической практике является перспективным направлением.

В современной ангиологии и сосудистой хирургии исследования на животных являются важным этапом доклинической валидации терапевтической эффективности лекарственных средств, а также безопасности разрабатываемых изделий медицинского назначения. Ежегодно в мире с исследовательской целью используется более 100 млн животных, большую часть из которых (85–90%) составляют крысы, мыши и другие виды грызунов. Очевидно, что экстраполяция результатов, полученных в эксперименте на моделях животных, не всегда позволяет получить релевантные результаты при проведении клинических испытаний на людях из-за анатомо-физиологических различий сердечно-сосудистой системы и особенностей патогенеза заболеваний [3].

Сердечно-сосудистая система свиней имеет много общего с таковой у человека по анатомо-физиологическим характеристикам, липидному профилю и особенностям метаболизма липопротеинов. Несмотря на различия между системами свертывания крови у свиней и у человека, свиньи остаются предпочтительным видом животных для трансляционных исследований, особенно при изучении изменений в системе гемостаза [4–6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить изменения в системе гемостаза организма животных с помощью метода ротационной тромбоэластометрии при протезировании брюшной аорты синтетическим и биологическим сосудистыми протезами.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (протокол № 3 от 01.11.2018). Программа и методика исследования разработаны в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных или иных научных целях (ETS № 123 от 18.03.1986).

Эксперимент проводили на базе вивария научно-исследовательской лаборатории ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» на самках беспородных белых свиней ($n=12$) массой $64,2 \pm 4,5$ кг. Расчет необходимого размера выборки выполнен с помощью программы G*Power (версия 3.1.9.7). До введения в эксперимент животные находились на карантине в течение 14 дней и содержались в стационарных условиях вивария на стандартной лабораторной диете. Свиньи были разделены на 2 группы:

- 1-я группа ($n=6$) – животные с имплантацией синтетического сосудистого протеза (СП), покрытого модифицированным желатином – Gelsoft Vascutek Terumo (Terumo Corporation, Япония);
- 2-я группа ($n=6$) – животные с имплантацией биологического сосудистого протеза (БП), изготовленного из ксеноперикарда.

За 1 час до операции каждой особи выполняли внутримышечное введение бензатина бензилпенициллина 2 400 000 ЕД + новокаиновая соль бензилпенициллина 600 000 ЕД. С целью премедикации внутривенно вводили 0,1%-й раствор атропина в дозе 0,05 мг/кг и дексаметазон 8 мг.

Животных укладывали на операционный стол, конечности фиксировали. Осуществляли мониторинг частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, электрокардиограммы, неинвазивное измерение артериального давления, пульсоксиметрию. Динамическую оценку витальных функций контролировали на мониторе DASH 3000 (GE Healthcare, США). В условиях тотальной внутривенной анестезии на спонтанном дыхании выполняли интубацию трахеи. Искусственную вентиляцию легких осуществляли аппаратом ВИАН-1 (ООО «Респект-плюс», Республика Беларусь).

Операционное поле обрабатывали 5%-м спиртовым раствором йода. Животным выполняли срединную лапаротомию, выделяли инфраренальный отдел брюшной аорты. Перед пережатием аорты болюсно вводили нефракционированный гепарин в дозе 100 МЕ/кг. После пережатия аорты выполняли резекцию ее участка на 10 мм ниже устьев почечных артерий и на 10 мм выше бифуркации. Резецированный сегмент линейно замещали используемыми сосудистыми протезами с формированием проксимального и дистального анастомозов по типу «конец в конец» монофиламентной нерассасывающейся нитью 5/0 с атравматическими иглами. При наложении анастомозов оператор применял бинокулярную лупу (SurgiTel Compact, США). После восстановления кровотока по аорте и протезу осуществляли контроль гемостаза, ушивали париетальную брюшину над аортой и протезом. Лапаротомную рану послойно ушивали с последующей обработкой швов спиртовым раствором антисептика и наложением асептической повязки.

Забор образцов крови производили перед операцией и на 1-й, 7-й, 14-й и 21-й дни после операции из краевой вены ушной раковины. Кровь помещали в вакуумные пробирки, содержащие 3,2%-й раствор натрия цитрата (Disera A.S., Турция). На автоматическом анализаторе ROTEM Delta (Tem Innovations GmbH, Германия)



в образцах крови оценивали параметры, характеризующие состояние системы гемостаза. Использовали следующие тесты: EXTEM (активация образования сгустка тканевым тромбопластином для оценки внешнего пути свертывания), INTEM (активация образования сгустка контактным путем с помощью эллаговой кислоты для оценки внутреннего пути свертывания), FIBTEM (активация как и в тесте EXTEM, но с добавлением цитохалазина D, блокирующего функцию тромбоцитов).

Анализировали следующие показатели: CT (clotting time – время от старта до формирования сгустка амплитудой 2 мм), CFT (clot formation time – время от формирования сгустка амплитудой 2 мм до сгустка амплитудой 20 мм – описывает динамику образования стабильного сгустка через активированные тромбоциты и фибрин), угол α – угол между основной линией и касательной к точке с амплитудой 2 мм, A10 – амплитуда формирования сгустка через 10 минут, MCF (maximum clot firmness – максимальная плотность сгустка). Общее число тромбоцитов (PLT) определяли с помощью автоматического гематологического анализатора UniCell DxH 800 (Beckman Coulter, США). Для оценки вклада тромбоцитов в формирование сгустка рассчитывали значение MCF PLT по формуле: $MCF\ PLT = MCF\ EXTEM - MCF\ FIBTEM$.

По завершении исследования животных в обеих группах поэтапно (в соответствии с протоколом – в 1, 3, 6 месяцев) выводили из эксперимента в соответствии с действующими нормативно-правовыми актами и международными рекомендациями по проведению экспериментальных исследований на животных.

Референтные интервалы значений исследуемых параметров (табл. 1) были определены у животных, не участвовавших в исследовании, и рассчитаны в соответствии с рекомендациями Международной федерации клинической химии [7] и Американского общества ветеринарной клинической патологии [8].

Полученные в ходе исследования значения непрерывных переменных представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q_1 – Q_3). Для установления различий динамики исследуемых параметров внутри каждой из исследуемых групп использовался непараметрический аналог дисперсионного анализа повторных измерений – тест Friedman. При выявлении статистически значимого результата теста Friedman для уточнения характера различий проводили post-hoc анализ с помощью критерия Wilcoxon с коррекцией уровня значимости по методу Holm. Для межгруппового сравнения значений медиан использовали U-критерий Mann – Whitney. Для определения характера, направления и силы связи показателя MCF PLT с параметрами

Таблица 1
Референтные интервалы значений параметров ROTЭМ и количества тромбоцитов
Table 1

Reference intervals of the values of ROTEM parameters and platelet count

Параметр	EXTEM	INTEM
CT, с.	46,0–54,0	109,0–133,0
CFT, с.	33,0–43,0	32,0–46,0
Alpha, °	81,5–83,6	82,1–83,9
MCF, мм	76,8–80,7	72,8–77,3
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	165–650	
A10 FIBTEM, мм	51,8–60,1	
MCF FIBTEM, мм	53,3–61,1	

РОТЭМ выполняли корреляционный анализ. α -уровень статистической значимости равен 5%. Статистический анализ выполняли с применением языка программирования R (версия 4.2.1 для ОС Windows).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

До операции между группами животных статистически значимых различий по значениям исследуемых параметров РОТЭМ не было (табл. 2).

Таблица 2
Значения параметров РОТЭМ до операции
Table 2
Values of ROTEM parameters before the operation

Параметр	БП	СП	p
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	352 (302–414)	396 (315–474)	0,573
MCF PLT, мм	18,0 (17,3–19,5)	23,5 (19,8–28,0)	0,170
A10 FIBTEM, мм	59,0 (55,8–60,8)	59,5 (56,5–61,3)	0,371
MCF FIBTEM, мм	59,5 (56,8–66,8)	54,5 (50,3–59,5)	0,296
EXTEM			
CT, с.	52,5 (49,8–54,5)	45,5 (42,8–49,0)	0,199
CFT, с.	35,5 (33,3–40,8)	45,0 (40,8–48,5)	0,128
Alpha, °	83,5 (82,3–84,0)	81,0 (80,3–81,8)	0,089
MCF, мм	78,5 (78,0–79,8)	76,0 (75,0–79,3)	0,468
INTEM			
CT, с.	121,5 (117,0–140,3)	137,5 (127,0–148,0)	0,171
CFT, с.	34,5 (32,3–37,5)	34,0 (31,0–36,3)	0,690
Alpha, °	83,5 (83,0–84,0)	82,0 (81,3–82,8)	0,086
MCF, мм	74,5 (73,3–78,0)	74,0 (71,5–76,5)	0,809

Таблица 3
Значения параметров РОТЭМ на 1-е сутки после операции
Table 3
Values of ROTEM parameters on the 1st day after surgery

Параметр	БП	СП	P
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	268,8 (249,2–339,3)	423,0 (415,1–423,0)	0,044
MCF PLT, мм	30,0 (28,3–35,5)	29,5 (25,3–36,8)	0,940
A10 FIBTEM, мм	46,0 (40,5–50,0)	44,5 (41,0–45,8)	0,630
MCF FIBTEM, мм	52,5 (43,8–56,0)	44,0 (42,3–47,3)	0,310
EXTEM			
CT, с.	49,0 (45,5–54,0)	50,0 (44,5–52,5)	0,873
CFT, с.	48,5 (46,3–52,3)	56,5 (52,0–59,5)	0,054
Alpha, °	80,5 (80,0–81,8)	78,5 (78,0–81,8)	0,934
MCF, мм	80,5 (78,5–83,3)	74,5 (71,8–78,0)	0,054
INTEM			
CT, с.	138,0 (128,0–148,8)	121,5 (117,3–128,8)	0,180
CFT, с.	43,0 (40,3–46,5)	47,0 (44,5–48,8)	0,336
Alpha, °	81,5 (81,0–82,0)	80,5 (80,0–81,8)	0,568
MCF, мм	75,0 (74,3–78,8)	75,0 (73,3–78,3)	0,747



Через сутки после операции выявлено незначительное увеличение СТ в группе животных с имплантированным биологическим сосудистым протезом в тестах INTEM.

В группе животных, которым был имплантирован синтетический сосудистый протез, зафиксировали увеличение времени формирования сгустка в тестах EXTEM и INTEM, а также снижение величины угла α и максимальной плотности сгустка в тесте EXTEM. При этом между группами животных наблюдали статистически

Таблица 4
Значения параметров РОТЭМ на 7-е сутки после операции
Table 4
Values of ROTEM parameters on the 7th day after surgery

Параметр	БП	СП	P
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	418,4 (371,8–458,9)	402,5 (332,0–438,8)	0,683
MCF PLT, мм	21,5 (19,3–23,8)	18,0 (15,3–20,8)	0,150
A10 FIBTEM, мм	54,5 (49,8–57,8)	60,5 (54,8–62,5)	0,240
MCF FIBTEM, мм	56,0 (49,0–58,5)	60,5 (58,5–61,8)	0,240
EXTEM			
CT, с.	45,0 (42,0–45,8)	52,0 (46,0–59,5)	0,196
CFT, с.	45,0 (42,0–45,8)	44,0 (40,5–48,3)	0,936
Alpha, °	84,0 (81,5–85,0)	81,5 (81,0–82,8)	0,288
MCF, мм	78,0 (77,3–80,3)	78,5 (75,5–80,8)	0,871
INTEM			
CT, с.	122,0 (119,3–124,0)	146,5 (127,0–161,5)	0,229
CFT, с.	122,0 (119,3–124,0)	39,0 (36,5–41,5)	0,005
Alpha, °	83,5 (78,5–84,0)	82,5 (81,3–83,0)	0,743
MCF, мм	75,5 (72,8–77,5)	76,5 (76,0–79,3)	0,419

Таблица 5
Значения параметров РОТЭМ на 14-е сутки после операции
Table 5
Values of ROTEM parameters on the 14th day after surgery

Параметр	БП	СП	P
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	394,3 (330,8–451,0)	291,5 (229,5–389,0)	0,683
MCF PLT, мм	18,5 (15,0–22,0)	20,5 (17,5–23,5)	0,750
A10 FIBTEM, мм	60,0 (55,8–62,8)	56,5 (54,3–59,5)	0,690
MCF FIBTEM, мм	61,5 (58,5–63,8)	56,0 (54,5–57,5)	0,334
EXTEM			
CT, с.	63,0 (55,0–66,5)	45,5 (43,5–49,0)	0,041
CFT, с.	45,5 (38,0–47,8)	44,0 (37,3–47,8)	1,000
Alpha, °	82,0 (80,5–82,8)	82,5 (81,3–83,8)	0,568
MCF, мм	79,5 (77,3–82,5)	76,5 (74,3–78,8)	0,422
INTEM			
CT, с.	180,0 (152,8–207,3)	111,0 (101,8–127,0)	0,004
CFT, с.	45,0 (39,5–49,8)	36,0 (33,5–38,5)	0,054
Alpha, °	81,5 (78,8–82,8)	82,5 (81,3–83,8)	0,375
MCF, мм	75,0 (70,8–77,8)	76,5 (73,5–79,5)	0,421

значимые различия по количеству тромбоцитов в периферической крови (Ме 268,8 (249,2–339,3) $\times 10^9/\text{л}$ в группе БП и Ме 423,0 (415,1–423,0) $\times 10^9/\text{л}$ в группе СП, $p=0,044$). Результаты ротационной тромбоэластометрии представлены в табл. 3.

На 7-е сутки после операции между исследуемыми группами выявлены статистически значимые различия в значениях времени формирования сгустка при активации свертывания по внутреннему пути: в группе БП – Ме 122,0 (119,3–124,0) с. и Ме 39,0 (36,5–41,5) с. в группе СП, $p=0,005$. Количество тромбоцитов у животных в группе БП составило Ме 418,4 (371,8–458,9) $\times 10^9/\text{л}$, а в группе СП – Ме 402,5 (332,0–438,8) $\times 10^9/\text{л}$, $p=0,683$. MCF PLT в группе БП составило Ме 21,5 (19,3–23,8) мм, в группе СП – Ме 18,0 (15,3–20,8) мм, $p=0,150$. Результаты ротационной тромбоэластометрии на 7-е сутки представлены в табл. 4.

Через 14 дней после операции у животных, которым был имплантирован биологический сосудистый протез, по сравнению с группой животных с имплантированным синтетическим сосудистым протезом, отмечали более высокие значения медианы СТ в тестах EXTEM ($\Delta \text{CT} = 17,5 \text{ с.}$; $p=0,041$) и INTEM ($\Delta \text{CT} = 69,0 \text{ с.}$; $p=0,004$), а также более высокие значения времени формирования сгустка. При этом значения остальных параметров не выходили за пределы референтного интервала. Подробные результаты через 14 дней после операции представлены в табл. 5.

Через 21 день после операции в группе БП по сравнению с группой СП выявлены более высокие значения СТ в тесте INTEM – Ме 137,0 (127,0–147,8) с. и Ме 112,0 (107,5–122,5) с. соответственно ($p=0,037$). Подробные результаты исследования крови животных представлены в табл. 6.

В ходе проводимого исследования наблюдали статистически значимую динамику в значениях MCF PLT ($\chi^2=10,79$; $p=0,029$ в группе БП и $\chi^2=11,83$; $p=0,019$ в группе СП) и амплитуды формирования сгустка через 10 минут в тесте FIBTEM ($\chi^2=11,08$; $p=0,026$ в группе БП и $\chi^2=16,39$; $p=0,003$ в группе СП).

Таблица 6
Значения параметров ROTЭМ на 21-е сутки после операции
Table 6
Values of ROTEM parameters on the 21st day after surgery

Параметр	БП	СП	P
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	332,8 (267,5–434,0)	305,5 (250,8–353,3)	0,683
MCF PLT, мм	17,5 (15,3–22,0)	18,0 (14,8–22,8)	1,000
A10 FIBTEM, мм	61,0 (56,0–64,5)	58,0 (51,5–62,3)	0,520
MCF FIBTEM, мм	61,5 (55,3–64,8)	59,5 (57,5–60,8)	0,630
EXTEM			
CT, с.	53,0 (50,3–56,5)	36,5 (29,5–44,3)	0,093
CFT, с.	38,0 (29,5–52,5)	37,5 (34,8–40,3)	1,000
Alpha, °	82,5 (81,3–83,8)	81,0 (80,3–81,8)	0,289
MCF, мм	77,5 (76,3–79,5)	77,5 (75,5–79,5)	0,872
INTEM			
CT, с.	137,0 (127,0–147,8)	112,0 (107,5–122,5)	0,037
CFT, с.	37,5 (32,0–50,5)	32,0 (29,5–35,3)	0,296
Alpha, °	82,0 (81,0–83,8)	82,0 (80,3–83,8)	0,935
MCF, мм	73,5 (72,3–78,5)	75,5 (73,5–76,8)	0,810



Значения MCF PLT и амплитуды формирования сгустка через 10 минут в тесте FIBTEM у экспериментальных животных представлены на рис. 1.

Однако при межгрупповом сравнении вышеуказанных показателей с применением U-критерия Mann –Whitney статистически значимых различий не выявили. Значения MCF PLT и амплитуды формирования сгустка через 10 минут в тесте FIBTEM у экспериментальных животных представлены на рис. 2.

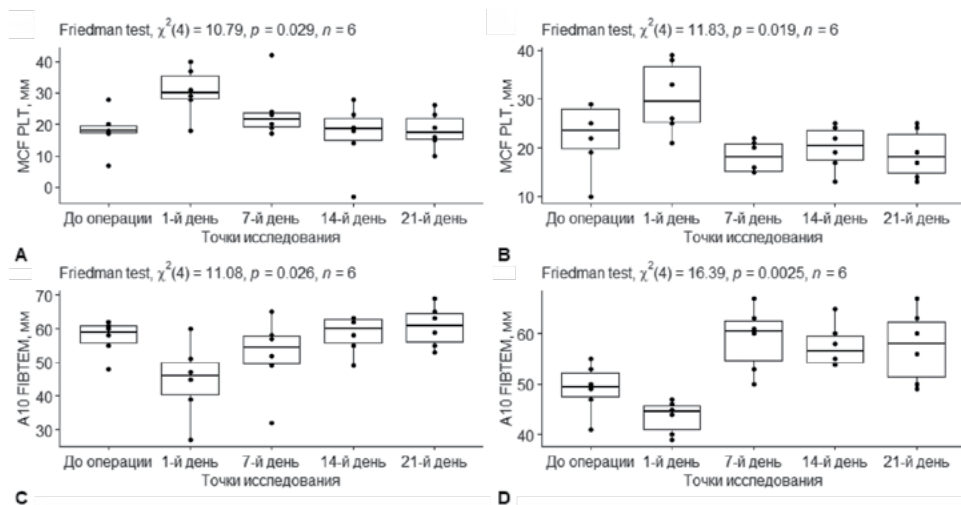


Рис. 1. Динамика значений MCF PLT и амплитуды формирования сгустка через 10 минут в тесте FIBTEM у животных с имплантированным биологическим (А, С) и синтетическим (В, D) сосудистыми протезами

Fig. 1. Dynamics of calculated MCF PLT values and amplitude of clot formation after 10 minutes in the FIBTEM test in animals with biological (A, C) and synthetic vascular grafts (B, D)

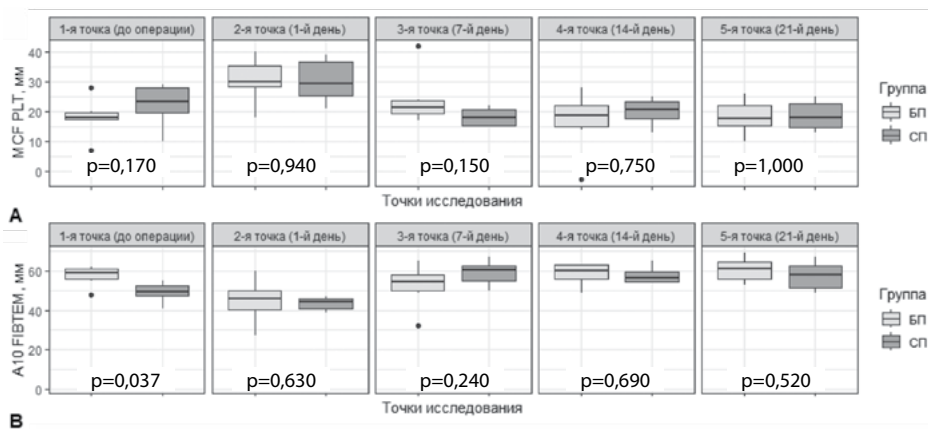


Рис. 2. Сравнение значений MCF PLT (А) и амплитуды формирования сгустка через 10 минут в тесте FIBTEM (В) в исследуемых группах животных с помощью U-критерия Mann – Whitney
Fig. 2. Comparison of MCF PLT values (A) and clot formation amplitude at 10th minute (B) in FIBTEM test using Mann – Whitney U-test

Вместе с тем выявлена статистически значимая корреляционная связь в значениях MCF PLT и угла α в тестах EXTEM ($p=0,276$; $p=0,032$) и INTEM ($p=0,274$; $p=0,034$). Кроме того, установлена статистически значимая корреляция между значением MCF PLT и значением MCF EXTEM ($p=0,290$; $p=0,025$).

Результаты корреляционного анализа представлены на рис. 3 и 4.

При поэтапном выведении животных из эксперимента в сроке до 3 месяцев после операции у двух животных с имплантированным синтетическим сосудистым протезом из дакрона выявлен полный тромбоз сосудистого графта. У животных, которым был имплантирован биологический сосудистый протез, тромботических

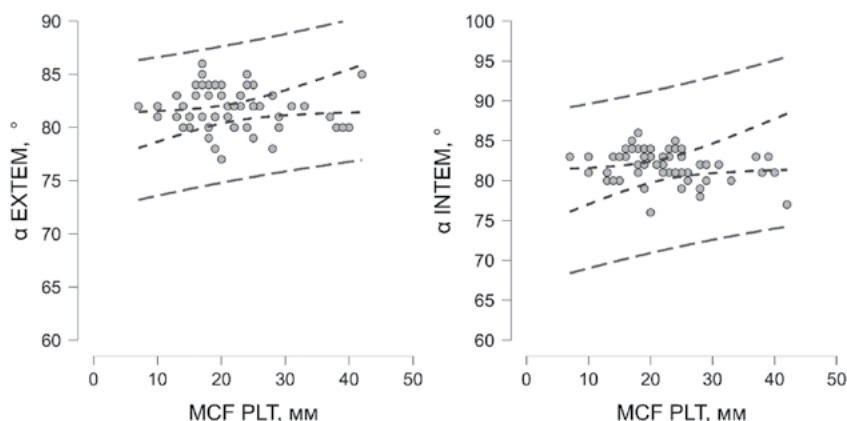


Рис. 3. Корреляция значений MCF PLT со значениями угла α в тесте EXTEM (слева) и значениями угла α в тесте INTEM (справа)

Fig. 3. Correlation between calculated MCF PLT values and angle α values in EXTEM (left) and INTEM (right) tests

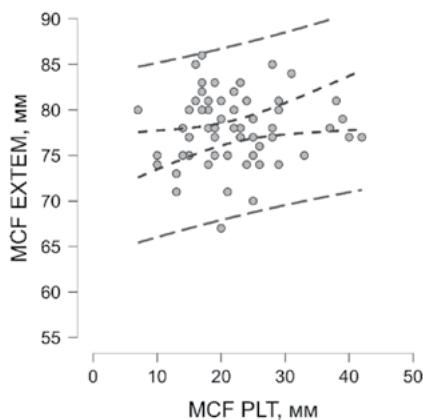


Рис. 4. Корреляция значений MCF PLT со значениями MCF EXTEM

Fig. 4. Correlation between calculated MCF PLT and MCF EXTEM values



осложнений в зоне протеза и анастомозов его с аортой на протяжении всего периода наблюдения (6 месяцев) не выявили.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Проводимые доклинические исследования в области сердечно-сосудистой хирургии с целью изучения взаимодействия разрабатываемых изделий медицинского назначения, которые находятся в постоянном контакте с окружающими тканями организма, включая кровь, имеют огромное практическое значение. Безопасность применения новых сосудистых протезов в ангиохирургии на практике напрямую зависит от создания максимально приближенной модели исследования на животных.

Возникающие изменения в системе гемостаза организма экспериментальных животных являются результатом сложного, многокомпонентного взаимодействия тромбоцитов, факторов свертывания и клеточных элементов [9–12]. По результатам проведенного поиска в имеющихся и доступных базах данных установлено, что на сегодняшний день представлено небольшое количество публикаций, в которых содержится подробное описание проводимых экспериментальных исследований с целью выявления межвидовых различий (между животными и человеком) в значениях показателей гемостаза. В некоторых из них оценка функционирования системы свертывания крови была выполнена не в полной мере. Так, в исследовании Kessler и соавт. [13] при изучении системы гемостаза на свиньях тесты NATEM и INTEM не выполнялись. Velik-Salchner C. и соавт. [14] изучали свертывание крови свиней Piétrain с помощью тестов EXTEM, INTEM и FIBTEM, но при этом не была изучена фибринолитическая способность крови, а также не выполнен тест NATEM.

Наиболее подробно изучили и представили сравнительное описание межвидовых особенностей коагуляции у человека и животных (свиньи, овцы, кролики и собаки) в своем исследовании R. Lechner с коллегами [15]. Анализ кинетики образования сгустка показал, что у всех животных наблюдались более раннее начало и более высокая скорость формирования сгустка, чем у людей.

В результате проведенного информационного поиска по имеющимся и доступным реферативным базам данных публикаций с подробными результатами изучения системы гемостаза на животных при имплантации сосудистых протезов найти не удалось.

Полученные в ходе экспериментального исследования изменения значений и динамики определенных показателей ротационной тромбоэластометрии, а именно увеличение времени свертывания крови, увеличение времени формирования сгустка в тестах EXTEM и INTEM в группе животных с имплантированным биологическим сосудистым протезом, указывают на более низкую тромбогенность биологического сосудистого протеза. Результаты корреляционного анализа указывают на возможность использования показателя MCF PLT для оценки вклада тромбоцитов в формирование сгустка и прогнозирования тромбоцитопении на основании данных ротационной тромбоэластометрии.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более высокие значения времени формирования сгустка в тестах EXTEM и INTEM при сохранении значений остальных параметров в пределах границ референтного

интервала указывают на более медленное начало образования фибрина и, соответственно, на более низкую тромбогенность биологического сосудистого протеза, по сравнению с синтетическим сосудистым протезом.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Björck M., Earnshaw J.J., Acosta S., Bastos Gonçalves F., Cochenne F., Debus E.S., Hinchliffe R., Jongkind V., Koelemay M.J.W., Menyhei G., Svetlikov A.V., Tshomba Y., Van Den Berg J.C., ESVS Guidelines Committee, de Borst G.J., Chakfé N., Kakkos S.K., Koncar I., Lindholt J.S., Tulamo R., Vega de Ceniga M., Vermassen F., Document Reviewers, Boyle J.R., Mani K., Azuma N., Choke ETC, Cohnert T.U., Fitridge R.A., Forbes T.L., Hamady M.S., Munoz A., Müller-Hülsbeck S., Rai K. Editor's Choice – European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2020 Clinical Practice Guidelines on the Management of Acute Limb Ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2020;59(2):173–218. doi: 10.1016/j.ejvs.2019.09.006.
2. Raval A.J., Parikh J.K., Desai M.A. A review on the treatment of intimal hyperplasia with perivascular medical devices: role of mechanical factors and drug release kinetics. *Expert Rev Med Devices.* 2023;20(10):805–819. doi: 10.1080/17434440.2023.2244875.
3. Hoareau G.L., Barthélemy A., Goy-Thollot I., Pouzot-Nevolet C., Beyer C.A., Walker L.E., Stewart I.J., Grayson J.K. Reference Intervals for and the Effects of Sample Handling and Sex on Rotational Thromboelastometry in Healthy Adult Pigs. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2020;59(3):322–327. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000095.
4. Mizuno T., Tsukiya T., Takewa Y., Tatsumi E. Differences in clotting parameters between species for preclinical large animal studies of cardiovascular devices. *J Artif Organs.* 2018;21(2):138–141. doi: 10.1007/s10047-017-1003-4.
5. Gutierrez K., Dicks N., Glanzner W.G., Agellon L.B., Bordignon V. Efficacy of the porcine species in biomedical research. *Front Genet.* 2015;6:293. doi: 10.3389/fgene.2015.00293.
6. Frith D., Cohen M.J., Brohi K. Animal models of trauma-induced coagulopathy. *Thromb Res.* 2012;129(5):551–556. doi: 10.1016/j.thromres.2011.11.053.
7. Ozarda Y., Sikaris K., Streichert T., Macri J. Distinguishing reference intervals and clinical decision limits – A review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2018;55(6):420–431. doi: 10.1080/10408363.2018.1482256.
8. Friedrichs K.R., Harr K.E., Freeman K.P., Szladovits B., Walton R.M., Barnhart K.F., Blanco-Chavez J. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol.* 2012;41(4):441–453. doi: 10.1111/vcp.12006.
9. Hennink I., Peters L., van Geest G., Adamik K.N. Evaluation of a Viscoelastic Coagulation Monitoring System (VCM Vet®) and Its Correlation with Thromboelastometry (ROTEM®) in Diseased and Healthy Dogs. *Animals (Basel).* 2023;13(3):405. doi: 10.3390/ani13030405.
10. Pavoni V., Giansello L., Conti D., Ballo P., Dattolo P., Prisco D., Görlinger K. "In Less than No Time": Feasibility of Rotational Thromboelastometry to Detect Anticoagulant Drugs Activity and to Guide Reversal Therapy. *J Clin Med.* 2022;11(5):1407. doi: 10.3390/jcm11051407.
11. Turner J.S., Kutter A.P.N., Sigrist N.E. Correlation of rotational thromboelastometry (ROTEM) parameters with platelet count and their ability to predict thrombocytopenia in dogs. *Res Vet Sci.* 2019;126:45–50. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.08.007.
12. Kol A., Borjesson D.L. Application of thrombelastography/thromboelastometry to veterinary medicine. *Vet Clin Pathol.* 2010;39(4):405–416. doi: 10.1111/j.1939-165X.2010.00263.x.
13. Kessler U., Grau T., Gronchi F., Berger S., Brandt S., Bracht H., Marcucci C., Zachariou Z., Jakob S.M. Comparison of porcine and human coagulation by thrombelastometry. *Thromb Res.* 2011;128(5):477–482. doi: 10.1016/j.thromres.2011.03.013.
14. Velik-Salchner C., Schnürer C., Fries D., Müssigang P.R., Moser P.L., Streif W., Kolbitsch C., Lorenz I.H. Normal values for thrombelastography (ROTEM) and selected coagulation parameters in porcine blood. *Thromb Res.* 2006;117(5):597–602. doi: 10.1016/j.thromres.2005.05.015.
15. Lechner R., Helm M., Müller M., Wille T., Riesner H.J., Friemert B. In-vitro study of species-specific coagulation differences in animals and humans using rotational thromboelastometry (ROTEM). *J R Army Med Corps.* 2019;165(5):356–359. doi: 10.1136/jramc-2018-001092.