

## Минимизация посттравматического кровотечения при тромболитической терапии путем системного введения фибрин-мономера в эксперименте

### Для корреспонденции:

Вячеслав Михайлович Вдовин,  
erytrab@gmail.com

Поступила в редакцию 18 декабря 2019 г.

Принята к печати 22 января 2020 г.

### Цитировать:

Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Красюкова В.О., Шахматов И.И., Лычёва Н.А., Момот Д.А., Чернусь В.Е., Теряев В.В. Минимизация посттравматического кровотечения при тромболитической терапии путем системного введения фибрин-мономера в эксперименте. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020;24(1):78-86. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-1-78-86>

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Финансирование

Исследование выполнено за счет средств гранта РФФИ (№ 18-415-220001) и ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: А.П. Момот, В.М. Вдовин, И.И. Шахматов  
Сбор данных: В.М. Вдовин, Д.А. Орехов, В.О. Красюкова, Н.А. Лычёва, Д.А. Момот, В.Е. Чернусь, В.В. Теряев  
Анализ и интерпретация данных: А.П. Момот, В.М. Вдовин  
Написание статьи: В.М. Вдовин, А.П. Момот  
Редактирование статьи: А.П. Момот, В.М. Вдовин  
Статистическая обработка данных: В.М. Вдовин  
Утверждение окончательного варианта статьи: все авторы

### ORCID ID

В.М. Вдовин, <https://orcid.org/0000-0002-4606-3627>  
А.П. Момот, <http://orcid.org/0000-0002-8413-5484>  
Д.А. Орехов, <https://orcid.org/0000-0003-0644-6313>  
В.О. Красюкова, <https://orcid.org/0000-0001-5752-3003>  
И.И. Шахматов, <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>  
Н.А. Лычёва, <https://orcid.org/0000-0002-5842-5728>  
Д.А. Момот, <https://orcid.org/0000-0002-7692-5048>  
© В.М. Вдовин, А.П. Момот, Д.А. Орехов, В.О. Красюкова, И.И. Шахматов, Н.А. Лычёва, Д.А. Момот, В.Е. Чернусь, В.В. Теряев, 2020  
Статья открытого доступа, распространяется по лицензии [Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

В.М. Вдовин<sup>1,2</sup>, А.П. Момот<sup>1,2,3</sup>, Д.А. Орехов<sup>4</sup>, В.О. Красюкова<sup>1</sup>,  
И.И. Шахматов<sup>1,2</sup>, Н.А. Лычёва<sup>2</sup>, Д.А. Момот<sup>1</sup>, В.Е. Чернусь<sup>1</sup>, В.В. Теряев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Барнаул, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Алтайский филиал, Барнаул, Российская Федерация

<sup>4</sup> Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Алтайский краевой кардиологический диспансер», Барнаул, Российская Федерация

**Актуальность.** Поиск эффективных и безопасных лекарственных средств, обладающих системным кровоостанавливающим действием, актуален. Ранее мы получили экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что фибрин-мономер в низкой дозе способен минимизировать посттравматическое кровотечение, не приводя к активации свертывания крови в общей циркуляции.

**Цель.** Изучить системные гемостатические и гемостазиологические эффекты фибрин-мономера при его профилактическом внутривенном введении на фоне активации фибринолиза стрептокиназой.

**Методы.** В плацебо-контролируемом исследовании на кроликах-самцах проводили активацию фибринолиза путем внутривенного введения стрептокиназы в дозе 150 000 МЕ/кг. Фибрин-мономер вводили внутривенно в дозе 0,25 мг/кг за 1 ч до травмы печени, транексамовую кислоту в качестве препарата сравнения — в дозе 15 мг/кг за 30 мин до травмы. После нанесения дозированной травмы оценивали кровопотерю и ее темп. Учитывали данные исследования числа тромбоцитов в крови, активированного парциального тромбопластинового времени, тромбинового времени, концентрации фибриногена и результаты ротационной тромбоэластометрии крови.

**Результаты.** Применение фибрин-мономера и транексамовой кислоты на фоне активации фибринолиза стрептокиназой снижало объем кровопотери в 11,0 и 15,4 раза соответственно, а ее темп в 3,8 раза, по сравнению с группой плацебо, получавшей тот же фибринолитик. Введение стрептокиназы во всех случаях сопровождалось уменьшением концентрации фибриногена на 23,0–30,0% от исходного уровня, без изменения результатов активированного парциального тромбопластинового и тромбинового времени. Гемостатические эффекты фибрин-мономера и транексамовой кислоты *in vivo* фиксировались на фоне сохранения плотностных свойств сгустка крови (амплитуда сгустка, максимальная плотность сгустка и амплитуда тромбоэластограммы через 10 мин при тромбоэластометрии) несмотря на введение стрептокиназы, тогда как в группе с плацебо наблюдалось выраженное снижение данных параметров.

**Заключение.** Системные гемостатические эффекты фибрин-мономера в дозе 0,25 мг/кг при активации фибринолиза стрептокиназой близки к эффектам транексамовой кислоты. Это дает основание для рассмотрения фибрин-мономера в качестве перспективного гемостатического препарата для минимизации кровотечений, связанных с тромболизисом.

**Ключевые слова:** гемостатический эффект; посттравматическая кровопотеря; стрептокиназа; транексамовая кислота; фибрин-мономер

## Введение

Во многих областях медицины актуален поиск эффективных и безопасных лекарственных средств, обладающих системным кровоостанавливающим действием, которые используются в органосберегающих технологиях для профилактики и лечения кровотечений в результате травмы или обширного хирургического вмешательства. Особое значение имеет способность данной группы препаратов к уменьшению кровопотери в условиях применения антикоагулянтов (гепарин, варфарин) и других средств антитромботической направленности.

Современные гемостатики системного действия (концентраты факторов протромбинового комплекса, эптакон альфа, транексамовая кислота и другие) реализуют кровоостанавливающий эффект в связи с усилением коагуляционных свойств крови/тромботического потенциала, что, однако, помимо терапевтического эффекта, создает риск тромбозов и тромбоэмболий [1, 2].

В XXI в. представления о физиологических механизмах гемостатических реакций претерпели значительные изменения. Этому способствовало развитие теории клеточной модели свертывания крови [3–5], а также понимание механизмов пространственной регуляции тромбино- и фибриногенеза [6]. Как известно, в основе гемокоагуляции лежат активация факторов свертывания и образование полимерного фибрина, стабилизируемого фактором XIIIa [7, 8]. Таким образом, согласно классическим представлениям, предполагается, что единственная функция фибрин-мономера (ФМ) заключается в формировании основы тромба или сгустка фибрина [9]. Ранее мы выдвинули гипотезу, согласно которой ФМ в дозе, не способной к аутополимеризации в сосудистом русле в связи с наличием фибриногена, обладает системным гемостатическим действием при травматическом повреждении тканей. В подтверждение данной гипотезы в недавно опубликованных материалах [10] продемонстрировано, что ФМ в низкой дозе (0,25 мг/кг) способен при внутривенном профилактическом введении минимизировать кровотечение при дозированной травме печени, не приводя при этом к усилению гемостатических реакций в системном кровотоке (отсутствие увеличения уровня

D-димера и изменений тромбоэластограммы). Особо отмечалось, что гемостатический эффект препарата ФМ в данной дозе сохраняется в полной мере и при прямом ингибировании тромбина дабигатраном этексилатом [11], варфарин- [12] и гепаринотерапии [13].

Наряду с обозначенными выше антикоагулянтами в группу антитромботических препаратов входят и активаторы фибринолиза (стрептокиназа и др.), используемые для проведения тромболитической терапии [14]. Как известно, фибринолитики, особенно в сочетании с травмой, могут провоцировать массивное кровотечение [15]. С учетом данного обстоятельства представляло интерес (в продолжение наших исследований) дальнейшее изучение гемостатических возможностей низкой дозы ФМ на фоне активации фибринолитических реакций.

Целью исследования являлось изучение системных гемостатических и гемостазиологических эффектов фибрин-мономера при профилактическом внутривенном введении на фоне активации фибринолиза стрептокиназой.

## Методы

Исследование выполнено на 57 здоровых половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла массой 3,0–4,5 кг. До эксперимента животные находились в стандартных условиях вивария в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Методом блочной рандомизации сформированы 4 экспериментальные группы (рис. 1).

Животным группы 1 ( $n = 13$ ) в краевую вену уха при помощи иглы-катетера Cathy (HMD, Финляндия) вводили плацебо (3,75 М раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ) в объеме 0,5 мл, затем через 1 ч, предварительно обезболив (общая анестезия препаратом «Телазол» («Зоэтикс», Россия) внутривенно в дозе 10 мг/кг), проводили лапаротомию и наносили дозированную травму печени специальным приспособлением в соответствии с имеющимися рекомендациями [16]. В результате травмы получался раневой кровоточащий дефект с ровными краями и равномерной кривизной, примерным диаметром 15 мм и глубиной около 5 мм.

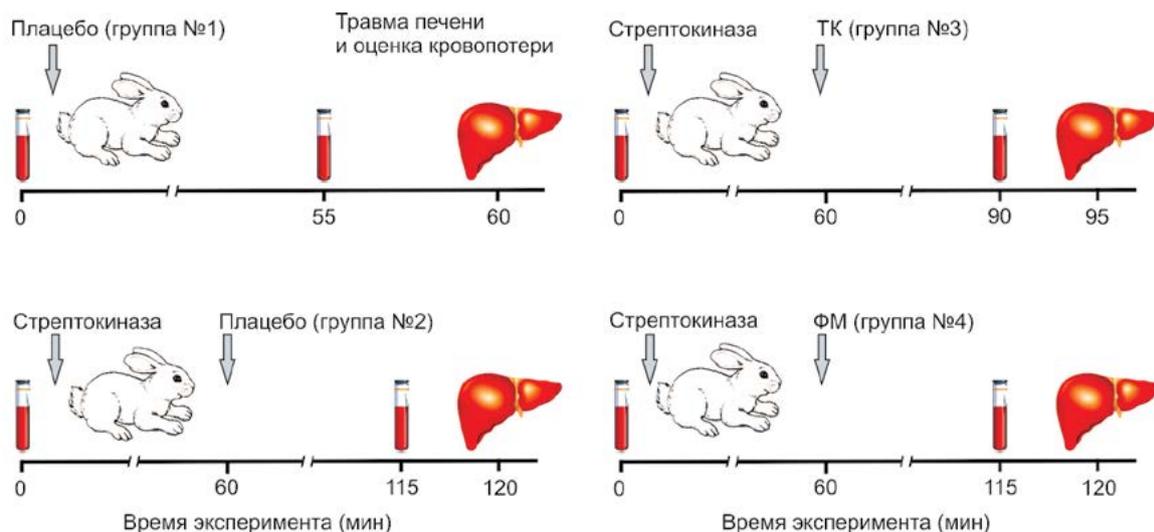


Рис. 1. Дизайн исследований с дозированной травмой печени

Примечание. ТК — транексамовая кислота; ФМ — фибрин-мономер;  — забор крови для оценки гемостаза

Активацию фибринолиза у животных, включенных в группы 2–4, проводили путем внутривенного (в/в) болюсного введения водного раствора стрептокиназы (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь) в дозе 150 000 МЕ/кг.

Спустя 1 ч животным указанных выше групп осуществляли в/в введение (в краевую вену уха) гемостатического препарата, обладающего системным действием, или плацебо. В качестве опытного препарата использовался фибрин-мономер (ФМ), произведенный фирмой «Технология-Стандарт» (Россия) в соответствии с ранее зарегистрированной технологией (Момот А.П., Шахматов И.И., Ломаев И.С., Терехов С.С. Способ промышленного получения фибрин-мономера из плазмы крови. Патент на изобретение РФ № 2522237. Бюлл. от 15.05.2014). В качестве препарата сравнения при оценке гемостатических и гемостазиологических эффектов ФМ применялась транексамовая кислота («Транексам», ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия).

Раствор плацебо в объеме 0,5 мл на фоне ранее введенной стрептокиназы вводился в/в животным группы 2 ( $n = 16$ ), раствор транексамовой кислоты (ТК) в дозе 15 мг/кг — группе 3 ( $n = 12$ ), водный раствор ФМ в дозе 0,25 мг/кг массы тела — группе 4 ( $n = 16$ ). Спустя 1 ч после в/в введения ФМ или плацебо либо 30 мин после введения ТК предварительно наркотизированным экспериментальным живот-

ным наносилась описанная выше травма печени [16].

При помощи стерильных марлевых салфеток у всех животных экспериментальных групп оценивали характер паренхиматозного кровотечения — по расчетному объему кровопотери с учетом массы тела [17] и темпу кровопотери в единицу времени [18].

Животных выводили из эксперимента после прекращения кровотечения из раны путем введения анестетика в летальной дозе (в 3–4 раза превышающей терапевтическую) [19, 20] либо в момент остановки сердечно-легочной деятельности (летальный исход) вне зависимости от продолжающегося кровотечения.

Эксперимент заканчивали в момент прекращения кровотечения из раны либо после остановки сердечно-легочной деятельности у животного (летальный исход).

Для исследования системы гемостаза кровь получали из краевой вены уха (самотеком) путем флеботомии. Забор крови проводили дважды: непосредственно перед в/в введением препаратов, а также после их введения — перед анестезией и нанесением травмы печени (рис. 1). Кровь помещали в пробирки с соответствующими стабилизаторами: для подсчета числа тромбоцитов — с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (AQUISEL® КЗЕ/EDTA 3К, Aquisel S.L., Испания) в объеме 0,25 мл, для изучения других параметров — в

полистироловые, содержащие 0,11 М (3,8%) раствора цитрата натрия (соотношение крови и стабилизатора 9:1) в объеме 5,0 мл, при этом первые 3–4 капли крови после флеботомии отбрасывали. Далее стабилизированную цитратом натрия кровь центрифугировали при 1 200 г в течение 15 мин для получения обедненной тромбоцитами плазмы крови [21].

Эксперименты на животных проводили с соблюдением принципов гуманности в соответствии с международными рекомендациями и российскими нормативно-правовыми документами: Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ЕСТ № 123 от 18.03.1986 г., Страсбург); Приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»; ГОСТ 33044-2014 «Межгосударственный стандарт. Принципы надлежащей лабораторной практики» (введен в действие Приказом Росстандарта № 1700-ст от 20.11.2014 г.). Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол № 12 от 12.11.2015 г.).

Исследование системы гемостаза включало оценку числа тромбоцитов в крови (с помощью гематологического анализатора Drew3, Drew Scientific Inc., Великобритания), активированного парциального тромбoplastинового и тромбинового времени свертывания, а также концентрации фибриногена (на коагулометре Thrombostat 2, Behnk Elektronik, Германия). Результаты оценки активированного парциального тромбoplastинового и тромбинового времени представлены в виде отношения, рассчитанного по формуле:

$$Ratio = BC_{опыт} / BC_{контроль}, \text{ где}$$

*Ratio* — отношение;

$BC_{опыт}$  — время свертывания в опытной плазме;

$BC_{контроль}$  — время свертывания в контрольной плазме.

Для изучения показателей коагулограммы использовались наборы реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия) с учетом имеющихся рекомендаций [21].

В качестве интегрального метода исследования применялась ротационная тромбоэластометрия

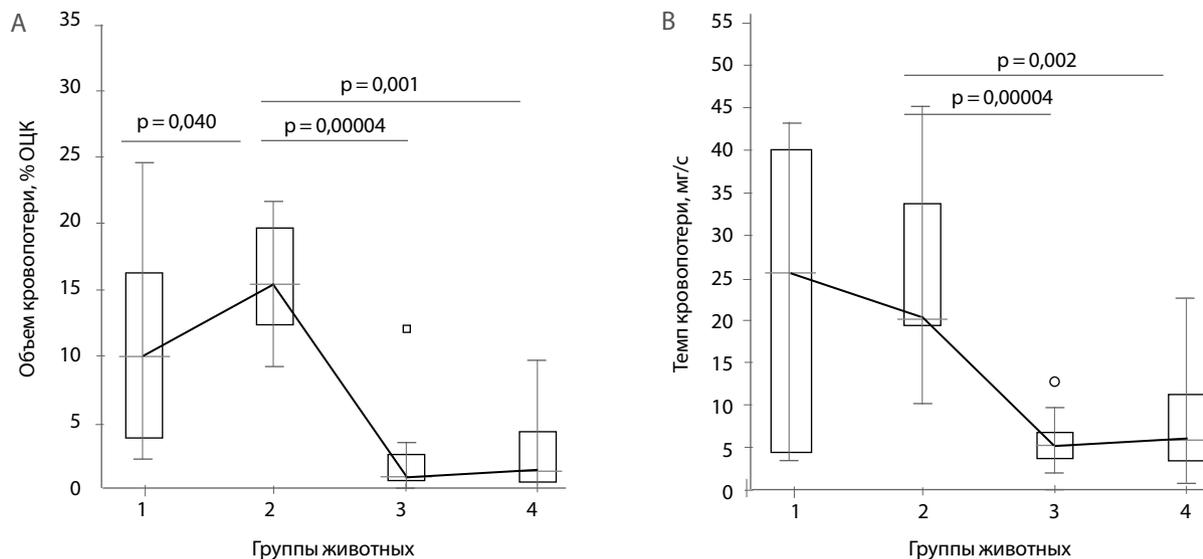
стабилизированной цитратом крови. Для этого применялись тромбоэластометр ROTEM® Gamma (Pentapharm GmbH, Германия) в режиме Natem и набор реагентов этого же производителя star-TEM®.

### Статистический анализ

Распределение признаков в выборках оценивали по критерию Шапиро – Уилка. В зависимости от распределения признаков применяли t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна – Уитни или W-критерий Уилкоксона. Летальность животных в группах устанавливали с помощью точного критерия Фишера. Корреляционную взаимосвязь между изучаемыми признаками определяли при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rS). Различия выборочных данных 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–Q75].

### Результаты

При проведении экспериментов регистрировалось количество животных с летальным исходом на фоне продолжающегося интраоперационного кровотечения. Определено, что после введения стрептокиназы и плацебо в экспериментальной группе 2 наблюдался летальный исход у 5 из 14 особей (36%,  $p = 0,04$ , в сравнении с группой 1). При этом применение ТК и ФМ после введения стрептокиназы не приводило к столь значимой гибели животных после травмы (по одному животному в каждой группе,  $p > 0,05$ , в сравнении с группой 2). Гибель животных оказалась сопоставимой с выраженностью посттравматической кровопотери. Так, объем кровопотери в группе животных 2, получивших стрептокиназу и плацебо, был в 1,5 раза выше, в сравнении с аналогичным показателем в группе животных с плацебо (группа 1), в частности по медиане: 15,4 [12,8–19,2] и 10,1 [4,3–16,3] % от теоретического рассчитанного объема циркулирующей крови соответственно (рис. 2). При этом различия в темпе кровопотери после нанесения травмы печени в указанных группах животных были статистически незначимы (20,0 [19,1–31,0] и 25,7 [7,1–36,5] мг/с соответственно).



**Рис 2.** Сравнительный анализ параметров кровопотери у экспериментальных животных после травмы печени на фоне применения стрептокиназы: объем (А) и темп (В) кровопотери

**Примечание.** Значения представлены в виде медианы — горизонтальной линии внутри прямоугольника, включающего 50% полученных значений и значений, соответствующих 2,5 и 97,5 процентиля (нижний и верхний вертикальные бары)

Отметим, что в случае прекращения сердечно-легочной деятельности (36% наблюдений в группе 2) эксперимент останавливался даже при продолжающемся кровотечении, что ограничивало увеличение фиксированных показателей кровопотери (по темпу и объему) по сравнению с животными в группе 1.

Анализ кровоточивости в группах 1 и 2 послужил основой для дальнейшего изучения эффектов гемостатических препаратов на фоне коагулопатии, индуцированной стрептокиназой.

Объем кровопотери в группах животных после в/в введения ТК (группа 3) и ФМ (группа 4) оказался в 15,4 раза (1,0 [0,7–2,3] % от объема циркулирующей крови) и в 11 раз (1,4 [0,7–4,4] % от объема циркулирующей крови) меньше по медиане в сравнении с группой 2 (рис. 2).

Аналогичная динамика наблюдалась и с показателем темпа кровопотери, который снижался после введения ТК (группа 3) в 3,8 раза (5,3 [3,8–6,8] мг/с) и ФМ (группа 4) в 3,4 раза (5,9 [3,3–9,8] мг/с) по медиане в сравнении с группой 2.

В группах 2 и 3 корреляционным анализом определена связь между объемом и темпом кровопоте-

ри у животных, получивших плацебо  $rS = 0,58$  ( $p = 0,029$ ) и ТК  $rS = 0,62$  ( $p = 0,029$ ) соответственно.

При изучении базовых показателей коагулограммы и тромбоэластометрии у животных разных групп с целью сравнительной оценки результатов применения системных гемостатических препаратов и плацебо были получены данные, представленные в табл. 1.

Следует отметить, что показатели коагулограммы (активированное парциальное тромбопластиновое и тромбиновое время) значительно не менялись во всех группах наблюдения — до и после введения плацебо или стрептокиназы в сочетании с плацебо, ТК или ФМ. В то же время введение стрептокиназы и плацебо в группе 2 при тромбоэластометрии сопровождалось гипокоагуляцией (по времени начала коагуляции) и снижением плотности сгустка (по амплитуде сгустка, максимальной плотности сгустка и амплитуде тромбоэластограммы через 10 мин), что не характерно для животных групп 3 и 4. Кроме того, у животных в группах 2–4 выявлено снижение концентрации фибриногена (по медиане на 23,0–30,0%,  $p = 0,0003–0,002$ ), что

**Таблица 1** Показатели системы гемостаза и тромбоэластометрии у животных на фоне введения стрептокиназы, гемостатиков и плацебо перед нанесением дозированной травмы печени

Показатель	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Группа 4	
	до введения плацебо <sup>(1а)</sup>	после введения плацебо <sup>(1б)</sup>	до введения стрептокиназы и плацебо <sup>(2а)</sup>	после введения стрептокиназы и плацебо <sup>(2б)</sup>	до введения стрептокиназы и транексамовой кислоты <sup>(3а)</sup>	после введения стрептокиназы и транексамовой кислоты <sup>(3б)</sup>	до введения стрептокиназы и фибрин-мономеров <sup>(4а)</sup>	после введения стрептокиназы и фибрин-мономеров <sup>(4б)</sup>
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	477,5 [405,8–621,5]	480,5 [412,3–555,0]	365,0 [317,0–454,0]	335,0 [305,0–419,5]	380,0 [297,5–417,8]	333,0 [294,0–381,5]	458,5 [377,0–514,3]	355,0 [317,0–445,0]
		$p_{1а-1б} = 0,151$		$p_{2а-2б} = 0,075$		$p_{3а-3б} = 0,784$		$p_{4а-4б} = 0,037$ $\Delta -15,4\%$
Активированное парциальное тромбопластиновое время, отношение	1,1 [1,0–1,2]	1,1 [0,9–1,2]	1,1 [0,9–1,1]	1,0 [1,0–1,0]	1,0 [0,8–1,2]	1,1 [1,1–1,2]	1,1 [1,0–1,2]	1,1 [0,9–1,2]
		$p_{1а-1б} = 0,248$		$p_{2а-2б} = 0,730$		$p_{3а-3б} = 0,177$		$p_{4а-4б} = 0,889$
Тромбиновое время, отношение	1,0 [0,9–1,0]	0,9 [0,9–1,0]	1,0 [0,9–1,0]	0,9 [0,9–1,0]	1,1 [1,0–1,2]	1,2 [1,1–1,3]	0,9 [0,8–1,0]	0,9 [0,8–0,9]
		$p_{1а-1б} = 0,215$		$p_{2а-2б} = 0,271$		$p_{3а-3б} = 0,099$		$p_{4а-4б} = 0,093$
Фибриноген, г/л	3,3 [2,8–4,4]	3,7 [2,8–4,5]	3,0 [2,4–3,2]	2,1 [1,9–2,8]	2,7 [2,3–2,9]	1,9 [1,6–2,1]	3,0 [2,1–3,6]	2,3 [1,8–3,0]
		$p_{1а-1б} = 0,811$		$p_{2а-2б} = 0,0003$ $\Delta -30,0\%$		$p_{3а-3б} = 0,002$ $\Delta -29,6\%$		$p_{4а-4б} = 0,003$ $\Delta -23,3\%$
Показатели тромбоэластографии								
Время коагуляции, с	605,5 [453,8–801,5]	628,0 [479,0–856,0]	457,5 [351,5–571,0]	617,5 [368,3–819,0]	862,5 [754,3–895,3]	531,0 [386,0–800,0]	547,0 [296,0–815,5]	507,5 [410,3–696,8]
		$p_{1а-1б} = 0,821$		$p_{2а-2б} = 0,023$ $\Delta +34,9\%$		$p_{3а-3б} = 0,020$ $\Delta -38,4\%$		$p_{4а-4б} = 0,670$
Амплитуда сгустка, °	57,0 [46,5–62,0]	55,0 [49,0–65,0]	55,0 [43,8–60,3]	41,0 [28,0–56,5]	45,5 [42,5–48,5]	46,5 [42,8–49,5]	54,5 [42,0–66,5]	58,0 [45,0–62,5]
		$p_{1а-1б} = 0,207$		$p_{2а-2б} = 0,016$ $\Delta -25,5\%$		$p_{3а-3б} = 0,689$		$p_{4а-4б} = 0,273$
Максимальная плотность сгустка, мм	59,5 [56,0–64,0]	58,0 [54,0–64,0]	58,0 [51,5–63,8]	35,0 [26,0–50,3]	51,0 [49,5–54,0]	52,0 [47,3–55,3]	52,0 [48,5–63,5]	52,0 [44,0–62,5]
		$p_{1а-1б} = 0,956$		$p_{2а-2б} = 0,0002$ $\Delta -39,7\%$		$p_{3а-3б} = 0,936$		$p_{4а-4б} = 0,067$
Амплитуда тромбоэластограммы через 10 мин, мм	44,0 [40,8–52,5]	43,0 [39,0–50,0]	43,0 [33,3–49,5]	26,5 [22,3–37,5]	36,0 [33,8–37,5]	36,5 [31,0–40,0]	41,5 [32,3–52,0]	41,0 [30,0–52,0]
		$p_{1а-1б} = 0,422$		$p_{2а-2б} = 0,007$ $\Delta -38,4\%$	36,0 [33,8–37,5]	$p_{3а-3б} = 0,845$		$p_{4а-4б} = 0,061$

Примечание.  $p$  — уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей;  $\Delta$  — разница показателей

было вполне ожидаемо, поскольку способность данного препарата вызывать фибринолиз известна [22].

Подчеркнем, что применение ФМ в группе 4 на фоне действия стрептокиназы не приводило к значимым изменениям тромбоэластограммы (при сравнении показателей до и после введения

ФМ), что корреспондировалось, как и в группе 3, с наблюдаемым гемостатическим эффектом *in vivo*. Другой находкой явилось снижение по медиане на 15,4% ( $p = 0,037$ ) числа тромбоцитов в крови у животных группы 4 после использования фибрин-мономеров.

## Обсуждение

Исследования, направленные на проверку гипотезы о системном гемостатическом действии ФМ на фоне тромболитической терапии, продемонстрировали значительное снижение кровопотери при системном введении данного производного фибриногена за 1 ч до нанесения дозированной травмы печени. Определено, что использование ФМ в низкой дозе (0,25 мг/кг) снижает не только объем (в 11 раз при сравнении данных в группах 2 и 4), но и темп кровотечения (в 3,4 раза при таком же сравнении), несмотря на уменьшение концентрации фибриногена на 23,3% от исходных значений в группе 4, связанное с фибринолизом, индуцированным стрептокиназой.

Гемостазиологические эффекты ФМ проявились при подсчете числа тромбоцитов и тромбозластометрии. Установлено, что сочетанное использование стрептокиназы и ФМ (в группе 4) наряду со снижением кровопотери приводит к потреблению тромбоцитов (в отличие от последствий применения ТК в группе 3). Данный факт может иметь значение в дальнейшем для объяснения механизмов гемостатического действия изучаемого в работе производного фибриногена. Другим эффектом ФМ явилось сохранение плотностных свойств сгустка крови по данным тромбозластометрии (амплитуда сгустка, максимальная плотность сгустка и амплитуда тромбозластограммы через 10 мин) на фоне введения стрептокиназы, что, впрочем, также наблюдалось и в случае использования ТК (в группе 3). И если такое действие антифибринолитика объяснимо с учетом данных других авторов [1, 23, 24], то зафиксированный гемостатический эффект при применении ФМ не вполне объясним, что предполагает проведение дальнейших исследований в данном направлении.

## Заключение

Системные гемостатические эффекты фибринмономера в дозе 0,25 мг/кг при активации фибринолиза стрептокиназой близки к эффектам ТК, что дает основания для рассмотрения ФМ в качестве перспективного гемостатического препарата для минимизации кровотечений, связанных с тромбозом.

## Список литературы / References

- Rossaint R., Bouillon B., Cerny V., Coats T.J., Duranteau J., Fernández-Mondéjar E., Filipescu D., Hunt B.J., Komadina R., Nardi G., Neugebauer E.A., Ozier Y., Riddez L., Schultz A., Vincent J.L., Spahn D.R. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit Care*. 2016;20:100. <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-016-1265-x>
- Damage control resuscitation at level IIb/III treatment facilities. *Joint Theater Trauma System Clinical Practice Guideline*. 2013. 32 p.
- Hoffman M., Monroe D.M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007;21(1):1-11. PMID: 17258114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2006.11.004>
- Hoffman M. Remodeling the blood coagulation cascade. *J Thromb Thrombolysis*. 2003;16(1-2):17-20. PMID: 14760207. <http://dx.doi.org/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28>
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 832 с. [Kuznik B.I. *Cellular and molecular regulation mechanisms of hemostasis system in health and disease*. Chita: Ekhspress-izdatelstvo; 2010. 832 p. (In Russ.)].
- Бутылин А.А., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Пространственная динамика свертывания крови. Российский химический журнал. 2007;LI(1):45-50. [Butylin A.A., Panteleev M.A., Ataullakhanov F.I. Spatial dynamics of blood clotting. *Russian Chemical Journal*. 2007;LI(1):45-50. (In Russ.)].
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: Фэн, 2000. 364 с. [Zubairov D.M. *Molecular basis of blood clotting and thrombus formation*. Kazan: Fen, 2000. 364 p. (In Russ.)].
- 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. [Lugovskoj E.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 Russ.)].
- Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Калинин Е.П., Карпова И.А., Полякова В.А. О регуляции неферментативного этапа свертывания крови (аутополимеризация и агрегация фибрина). *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2012;49(1):27-46. [Byshevskiy A.Sh., Galyan S.L., Kalinin E.P., Karpova I.A., Polyakova V.A. About regulation of non-enzymatic stage of blood coagulation (autopolymerization and aggregation of fibrin). *Tromboz, Gemostaz i Reologia*. 2012;49(1):27-46. (In Russ.)].
- 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., Киселёв В.И. Системные гемостатические и протромботические эффекты фибрин-мономера в эксперименте при дозированной травме печени. Сибирский научный медицинский журнал. 2019;39(1):6-12. [Momot A.P., Vdovin V.M., Shahmatov I.I., Tolstokorov I.G., Orekhov D.A., Shevchenko V.O., Lycheva N.A., Kudinov A.V., Belozerskaja G.G., Kisel'ov V.I. Systemic hemostatic and prothrombotic effects of fibrin monomer in the

- experiment with dosed injury of the liver. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(1):6-12. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.15372/SSMJ20190101>
11. Вдовин В.М., Момот А.П., Красюкова В.О., Толстокооров И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Лычёва Н.А. Системные гемостатические и гемостазиологические эффекты фибрин-мономера при прямом ингибировании тромбина в эксперименте. Российский физиологический журнал. 2019;105(2):207-2015. [Vdovin V.M., Momot A.P., Krasjukova 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. *Russian Physiological Journal*. 2019;105(2):207-2015. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.1134/S0869813919020109>
  12. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстокооров И.Г., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Лычёва 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;79(3):16-23. [Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A., Krasjukova V.O. Systemic hemostatic and hemostasiological effects of fibrin monomer in low dose in experiment on the background of warfarin. *Tromboz, Gemostaz i Reologia*. 2019;79(3):16-23. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25555/THR.2019.3.0885>
  13. Момот А.П., Вдовин В.М., Орехов Д.А., Лычёва Н.А., Толстокооров 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. [Momot A.P., Vdovin V.M., Orekhov D.A., Lycheva N.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Krasjukova V.O., Shakhmatov I.I. Prevention of massive intraoperative bleedings associated with heparin with the systemic use of fibrin monomer in the experiment. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter*. 2019;63(4):48-55. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.04.48-55>
  14. Dreijer A.R., Kruip M.J., Diepstraten J., Polinder S., Brouwer R., Leebeek F.W., Vulto A.G., Bemt P.M. Antithrombotic stewardship: a multidisciplinary team approach towards improving antithrombotic therapy outcomes during and after hospitalisation: a study protocol. *BMJ Open*. 2016;6(12):e011537. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2016-011537>
  15. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО). Флебология. 2015;9(4-2):1-52. [Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of venous thromboembolic complications (VTEC). *Phlebology*. 2015;9(4-2):1-52. (In Russ.)].
  16. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. 944 p. [Mironov A.N. *Guidelines for conducting preclinical studies of drugs*. Part 1. Moscow: Griff and K, 2012. 944 p. (In Russ.)].
  17. Абрашова Т.В., Гушин Я.А., Ковалева М.А., Рыбакова А.В., Селезнева А.И., Соколова А.П., Ходько С.В. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПб: ЛЕМА, 2013. 116 с. [Abrashova T.V., Gushhin Ja.A., Kovaleva M.A., Rybakova A.V., Selezneva A.I., Sokolova A.P., Hod'ko S.V. *Physiological, biochemical and biometric parameters of the norm of experimental animals*. Saint Petersburg: LEMA, 2013. 116 p. (In Russ.)].
  18. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 828 с. [Khabriev R.U. *Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances*. Moscow: Meditsina, 2005. 828 p. (In Russ.)].
  19. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. *Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1*. Laboratory Animals. 1996;30(4):298-316.
  20. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. *Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2*. DGXT of the European Commission. Laboratory Animals. 1997;31(1):1-32.
  21. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия системы гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. 283 с. [Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnostics and controlled therapy of the hemostatic system*. Moscow: N'yudiamed, 2008. 283 p. (In Russ.)].
  22. Айсина Р.Б., Мухаметова Л.И., Гулин Д.А., Гершкович К.Б., Варфоломеев С.Д. Стрептокиназа и стафилокиназа: различия кинетики и механизма взаимодействия с плазминогеном, ингибиторами и фибрином. Биоорганическая химия. 2015;41(5):565-578. [Aisina R.B., Mukhametova L.I., Varfolomeyev S.D., Gulin D.A., Gershkovich K.B. Streptokinase and staphylokinase: Differences in the kinetics and mechanism of their interaction with plasminogen, inhibitors, and fibrin. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2015;41(5):565-578.] <http://dx.doi.org/10.7868/S0132342315050036>
  23. Будник И.П., Морозова О.Л., Цымбал А.А., Шенкман Б., Эйнав Ю. Анализ влияния транексамовой кислоты, фактора XIII и концентрата фибриногена на формирование и лизис кровяного сгустка при избыточном фибринолизе, индуцированном тканевым и урокиназным активатором плазминогена. Гематология и трансфузиология. 2018;63(1):55-64. [Budnik I.A., Morozova O.L., Tsybmal A.A., Shenkman B., Einav Yu. Effects of tranexamic acid, factor XIII, and fibrinogen on clot formation and lysis in the model of hyperfibrinolysis induced by tissue urokinase-type plasminogen activator. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2018;63(1):55-64. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.86.1..005>
  24. Hunt B.J., Allard S., Keeling D., Norfolk D., Stanworth S.J., Pendry K. A practical guideline for the haematological management of major haemorrhage. *British Journal of Hematology*. 2015;170(6):788-803. PMID: 26147359. <https://doi.org/10.1111/bjh.13580>

## Posttraumatic bleeding reduction by systemic administration of fibrin monomer in thrombolytic therapy

Viacheslav M. Vdovin<sup>1,2</sup>, Andrey P. Momot<sup>1,2,3</sup>, Dmitry A. Orekhov<sup>4</sup>, Veronika O. Krasnyukova<sup>1</sup>, Igor I. Shakhmatov<sup>1,2</sup>, Natalia A. Lycheva<sup>2</sup>, Dmitry A. Momot<sup>1</sup>, Vladimir E. Chernus<sup>1</sup>, Viacheslav V. Terjaev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation

<sup>2</sup>Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>3</sup>National Research Center for Hematology, Barnaul, Russian Federation

<sup>4</sup>Altai Regional Cardiology Health Center, Barnaul, Russian Federation

**Corresponding author.** Viacheslav M. Vdovin, [erytrab@gmail.com](mailto:erytrab@gmail.com)

**Background.** There is a continued search for effective and safe drugs with systemic hemostatic effects. Experimental data from previous studies show that low-dose fibrin monomer (FM) can reduce posttraumatic bleeding without causing activation of clotting in the circulating blood.

**Aim.** To study the systemic hemostatic and hemostasiological effects of prophylactic intravenous administration of FM on the background of fibrinolysis activation by streptokinase.

**Methods.** In a placebo-controlled study using male rabbits, fibrinolysis was activated by intravenous administration of streptokinase at a dose of 150,000 IU/kg. One hour before liver injury, FM was administered intravenously at a dose of 0.25 mg/kg. Tranexamic acid (TXA) was administered intravenously at a dose of 15 mg/kg 30 min before injury as a reference drug. After metered-dose injuring, blood loss was estimated as % of the circulating blood volume and by the rate of blood loss (mg/s). The study of blood platelet count, activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT), fibrinogen concentration and the results of rotational blood thromboelastometry were taken into consideration.

**Results.** Administration of FM and TXA before fibrinolysis activation by streptokinase reduced the blood loss volume by 11.0 and 15.4 times, respectively. FM and TXA both reduced the blood loss rate by 3.8 times compared to the placebo group that received the same fibrinolytic. The administration of streptokinase in all cases was accompanied by 23–30% a decrease in the fibrinogen concentration without affecting APTT and TT. The hemostatic effects of FM and TXA were observed in vivo while preserving the density properties of the blood clot (according to the parameters of  $\alpha$  angle, MCF and A10 in thromboelastometry) despite the administration of streptokinase, whereas a significant decrease in these parameters was observed in the placebo group.

**Conclusion.** The systemic hemostatic effects of FM at a dose of 0.25 mg/kg with fibrinolysis activation by streptokinase were close to the effects of TXA. Thus, FM administration can be considered a promising hemostatic therapy for the reduction of thrombolysis-associated bleeding.

**Keywords:** fibrin monomer; hemostatic effect; posttraumatic blood loss; streptokinase; tranexamic acid

Received 18 December 2019. Accepted 22 January 2020.

**Funding:** The study was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (No. 18-415-220001), Altai State Medical University.

**Conflict of interest:** Authors declare no conflict of interest.

### Author contributions

Conception and study design: A.P. Momot, V.M. Vdovin, I.I. Shakhmatov. Data collection: V.M. Vdovin, D.A. Orekhov, V.O. Krasnyukova, N.A. Lycheva, D.A. Momot, V.E. Chernus, V.V. Terjaev. Data analysis: A.P. Momot, V.M. Vdovin. Drafting the article: V.M. Vdovin, A.P. Momot. Critical revision of the article: A.P. Momot, V.M. Vdovin. Statistical analysis: V.M. Vdovin.

Final approval of the version to be published: V.M. Vdovin, A.P. Momot, D.A. Orekhov, V.O. Krasnyukova, I.I. Shakhmatov, N.A. Lycheva, D.A. Momot, V.E. Chernus, V.V. Terjaev

### ORCID ID

V.M. Vdovin, <https://orcid.org/0000-0002-4606-3627>; A.P. Momot, <http://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

D.A. Orekhov, <https://orcid.org/0000-0003-0644-6313>; V.O. Krasnyukova, <https://orcid.org/0000-0001-5752-3003>

I.I. Shakhmatov, <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>; N.A. Lycheva, <https://orcid.org/0000-0002-5842-5728>

D.A. Momot, <https://orcid.org/0000-0002-7692-5048>

**Copyright:** © 2020 Vdovin et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

**How to cite:** Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Krasnyukova V.O., Shakhmatov I. I., Lycheva N.A., Momot D.A., Chernus V.E., Terjaev V.V. Posttraumatic bleeding reduction by systemic administration of fibrin monomer in thrombolytic therapy. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2020;24(1):78-86. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-1-78-86> (In Russ.).