

Эффекты транексамовой кислоты и экзогенного фибрин-мономера в области травмы печени и в системном кровотоке при фармакологическом подавлении функции тромбоцитов в эксперименте

Вячеслав Михайлович Вдовин^{1*}, Андрей Павлович Момот^{1,2},
Игорь Ильич Шахматов¹, Игорь Петрович Бобров¹,
Дмитрий Андреевич Орехов³, Вячеслав Витальевич Теряев¹,
Владимир Евгеньевич Чернусь¹, Дарья Владимировна Кузнецова¹

¹Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия;

²Алтайский филиал Национального медицинского исследовательского центра гематологии, г. Барнаул, Россия;

³Алтайский краевой кардиологический диспансер, г. Барнаул, Россия

Реферат

Цель. Выявить и сопоставить морфологические, гемостатические и гемостазиологические последствия внутривенного введения транексамовой кислоты и фибрин-мономера при дозированной травме печени на фоне фармакологически обусловленной тромбоцитопатии.

Методы. На 69 кроликах-самцах изучали морфологическую картину фибринообразования в области нанесения травмы печени после спонтанной остановки кровотечения в сопоставлении с показателями кровопотери у животных, получивших внутривенно плацебо, транексамовую кислоту или фибрин-мономер. Эффекты этих препаратов оценивали на фоне тромбоцитопатии, связанной с использованием ацетилсалициловой кислоты в комбинации с клопидогрелом. При исследовании крови учитывали число и функцию тромбоцитов (агрегация с аденозиндифосфатом), данные тромбозластометрии и калиброванной тромбографии, концентрацию фибриногена и уровень D-димера. 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. Различия по уровню летальности устанавливали с помощью точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Воспроизведена модель тромбоцитопатии, проявившая себя снижением агрегационной функции тромбоцитов (в 4,5 раза), увеличением кровопотери (на 40%) и высокой летальностью (53,9%). На раневой поверхности у таких животных отмечено скопление лишь небольших тромботических масс. Применение транексамовой кислоты приводило к снижению посттравматической кровопотери (в 2,5 раза) и летальности животных (20%). Последнее обеспечивалось на раневой поверхности за счёт увеличения толщины как тромботических отложений, так и самих нитей фибрина. В случае использования фибрин-мономера, несмотря на выраженное снижение агрегационной функции тромбоцитов, отмечен феномен сверхкомпенсированного снижения кровопотери (в 6,7 раза), сопровождающийся нулевой летальностью. Морфологически в зоне травмы определён максимальный прирост толщины тромботических масс и нитей фибрина по сравнению с другими группами животных.

Вывод. Морфологические особенности прираневого гемостатического эффекта при применении транексамовой кислоты и фибрин-мономера имеют ряд различий, несмотря на близость достигаемых результатов по минимизации кровопотери.

Ключевые слова: фибрин-мономер, ацетилсалициловая кислота, клопидогрел, транексамовая кислота, посттравматическое кровотечение, гемостатический эффект, образование фибрина.

Для цитирования: Вдовин В.М., Момот А.П., Шахматов И.И., Бобров И.П., Орехов Д.А., Теряев В.В., Чернусь В.Е., Кузнецова Д.В. Эффекты транексамовой кислоты и экзогенного фибрин-мономера в области травмы печени и в системном кровотоке при фармакологическом подавлении функции тромбоцитов в эксперименте. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (5): 642–653. DOI: 10.17816/KMJ2021-642.

Effects of tranexamic acid and exogenous fibrin monomer on the liver injury area and systemic circulation in pharmacological suppression of platelet function in an experiment

V.M. Vdovin¹, A.P. Momot^{1,2}, I.I. Shakhmatov¹, I.P. Bobrov¹, D.A. Orekhov³, V.V. Terjaev¹, V.E. Chernus¹, D.V. Kuznetsova¹

¹Altai State Medical University, Barnaul, Russia;

²Altai Branch of FSBI National Research Center for Hematology, Barnaul, Russian;

³Altai Regional Dispensary of Cardiology, Barnaul, Russian

Abstract

Aim. To identify and compare the morphological, hemostatic and hemostasiological consequences of intravenous administration of tranexamic acid and fibrin monomer in controlled liver injury against drug-induced thrombocytopeny.

Methods. The morphological features of fibrin formation in the area of liver injury after spontaneous bleeding arrest combined with the indicators of blood loss in the animals treated with intravenous placebo, tranexamic acid or fibrin monomer was studied in 69 male rabbits. The effects of these drugs were assessed against thrombocytopeny associated with the combined use of acetylsalicylic acid and clopidogrel. Platelet number and function (adnosine diphosphate-induced aggregation), the data of thromboelastometry and calibrated automated thrombogram, fibrinogen concentration and D-dimer level were considered in the blood test. The feature distribution in the samples was assessed using the Shapiro–Wilk test. Depending on the distribution, Student's t-test, Mann–Whitney U test or Wilcoxon signed-rank test were used to test for a significant difference between the features. Differences in mortality rate were established by using Fisher's exact test. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. A model of thrombocytopeny which showed decreased platelet aggregation function (by 4.5 times), increased blood loss (by 40%), and high mortality (53.9%) was reproduced. Only a small accumulation of thrombotic material was noted on the injured surface of such animals. The use of tranexamic acid led to decreased post-traumatic bleeding (2.5 times) and animal mortality (20%). The latter was provided on the wound surface by increasing the thickness of both thrombotic deposits and fibrin strands. When fibrin monomer was used, the phenomenon of an overcompensated decrease in blood loss (by 6.7 times) accompanied by zero mortality was noted despite a pronounced decrease in platelet aggregation. The maximum increase in the thickness of thrombotic material and fibrin strands was morphologically determined in the injury area compared with other animal groups.

Conclusion. Morphological features of traumatic hemostatic effect at the injured area when using tranexamic acid and fibrin monomer have a number of differences despite the similarity of the achieved results in minimizing blood loss.

Keywords: fibrin monomer, acetylsalicylic acid, clopidogrel, tranexamic acid, post-traumatic bleeding, hemostatic effect, fibrin formation.

For citation: Vdovin V.M., Momot A.P., Shakhmatov I.I., Bobrov I.P., Orekhov D.A., Terjaev V.V., Chernus' V.E., Kuznetsova D.V. Effects of tranexamic acid and exogenous fibrin monomer on the liver injury area and systemic circulation in pharmacological suppression of platelet function in an experiment. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (5): 642–653. DOI: 10.17816/KMJ2021-642.

Актуальность. Гемостазиология — один из разделов гематологии, активно развивающийся на протяжении длительного периода времени по мере приобретения новых знаний. Современные исследования регуляции свёртывания крови на клеточном и молекулярном уровнях [1–4], а также особенностей пространственного тромбогенеза в условиях *in vitro* [5] создают новые предпосылки для изучения механизмов системы гемостаза в условиях живого организма [6].

Исследования, проведённые ранее в нашей лаборатории, продемонстрировали наличие

уникальных гемостатических и гемостазиологических эффектов у низких доз введённого в кровоток фибрин-мономера (ФМ, структурно — дезААВВ-фибриноген) [7, 8]. В них же было установлено, что гемостатический эффект экзогенного ФМ проявляется после травмы паренхиматозного органа не только в группе интактных животных, но и у животных на фоне угнетения агрегационной функции тромбоцитов, связанного с применением двойной антитромбоцитарной терапии [9]. При этом было показано, что гемостатическая активность ФМ оказалась со-

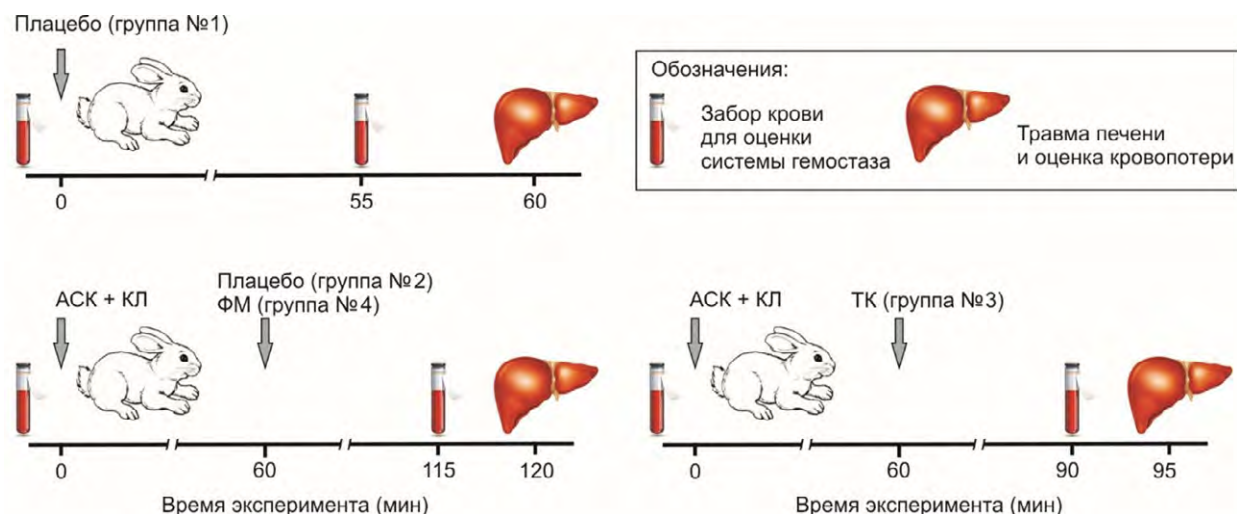


Рис. 1. Дизайн экспериментов с дозированной травмой печени; АСК — ацетилсалициловая кислота; КЛ — клопидогрел; ТК — транексамовая кислота; ФМ — фибрин-мономер

поставимой с таковой в случаях применения транексамовой кислоты (ТК) — часто используемого препарата для минимизации кровотечений микроциркуляторного типа, в том числе посттравматической кровопотери [10, 11].

Используемая доза ФМ (0,25 мг/кг) нами была выбрана из нескольких возможных, в диапазоне от 0,1 до 5,0 мг/кг [7], причём критерием отбора было сочетание высоких гемостатических свойств с отсутствием лабораторно выявляемого протромбогенного влияния на систему гемостаза в целом. Следует сказать, что данная доза ФМ при введении в кровоток по расчётам близка к его физиологическому уровню в плазме крови у здоровых людей (менее 7,8 мкг/мл) [12].

Ранее также были изучены гемостатические эффекты протамина сульфата и ФМ у гепаринизированных животных с оценкой морфологической картины в области нанесения травмы [13]. Эти вещества оказались весьма близки между собой и сопоставимы по гистологическим особенностям тромбообразования в области раны. Между тем, в этих же экспериментах было показано, что протамина сульфат минимизирует кровотечение на фоне системной нормокоагуляции (в связи со связыванием гепарина), в то время как ФМ реализует своё действие на фоне перманентной гепарин-обусловленной гипокоагуляции.

Для поиска новых фактов, позволяющих приблизиться к расшифровке механизмов гемостатического действия ФМ, представлялось интересным проведение такого же анализа и в случае снижения гемостатического потенциала, связанного с подавлением функциональной активности тромбоцитов.

Цель. В связи с этим целью настоящего исследования было выявление и сопоставление морфологических, гемостатических и гемостазиологических последствий внутривенного введения ТК и ФМ при дозированной травме печени на фоне фармакологически обусловленной тромбоцитопатии.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на 69 здоровых половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла с массой тела 3,0–4,5 кг. Эксперименты на животных проводили в соответствии с Европейской конвенцией и директивами по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте 86/609/ЕЕС, а также Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол №12 от 12.11.2015).

Животные были разделены на четыре группы (рис. 1).

Животным первой группы (n=21) в краевую вену уха (внутривенно) вводили водный раствор плацебо (3,75 М раствор мочевины, соответствующий её концентрации в растворе ФМ) объёмом 0,5 мл. Далее через 1 ч проводили лапаротомию под общей анестезией препаратом телазол (фирма «Зоэтикс», Россия, внутривенно 10 мг/кг) и наносили стандартную травму печени в соответствии с имеющимися рекомендациями [14].

Животным групп со второй по четвёртую для подавления агрегационной функции тромбоцитов в начале эксперимента *per os* вводили смесь растворённых в воде ацетилсалициловой кислоты (тромбо АСС®, Ланнахер Хайльмиттель ГмбХ, Австрия) в дозе 2,0 мг/кг и клопидо-

грела (плавикс[®], Санофи Винтроп Индустрия, Франция) в дозе 8,0 мг/кг. Как известно, механизм действия ацетилсалициловой кислоты связан с необратимым угнетением циклооксигеназы-1 тромбоцитов и последующим уменьшением синтеза тромбоксана A_2 . Клопидогрел же представляет собой пролекарство, посредством метаболизма в печени превращается в свою активную форму и выступает антагонистом $P2Y_{12}$ -рецепторов тромбоцитов [15].

Через 1 ч после приёма указанных антиагрегантов животным внутривенно вводили водные растворы следующих препаратов: во второй группе (n=13) — плацебо объёмом 0,5 мл, в третьей группе (n=22) — ТК (транексам[®], ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия) в дозе 15 мг/кг, в четвёртой группе (n=13) — ФМ в дозе 0,25 мг/кг (ООО «Технология-Стандарт»).

Животным второй и четвёртой групп через 1 ч после введения плацебо и ФМ, а животным третьей группы через 30 мин наносили стандартную травму печени под общей анестезией телазолом и при помощи марлевых салфеток оценивали характер паренхиматозного кровотечения — по объёму кровопотери (% расчётного объёма циркулирующей крови) с учётом массы тела животного, а также по темпу кровопотери в единицу времени (мг/с) [14].

Для оценки системы гемостаза кровь получали после надреза краевой вены уха (самотёком) дважды — до введения препаратов и перед нанесением травмы печени (см. рис. 1). Кровь помещали в пробирки с соответствующими стабилизаторами: для подсчёта числа тромбоцитов — с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (AQUISEL[®] K3E/EDTA 3K, Aquisel S.L., Испания) в объёме 0,25 мл, для изучения других параметров — с 0,11 М (3,8%) раствором цитрата натрия (соотношение крови и стабилизатора 9:1) в объёме 5,0 мл. Получение богатой и обеднённой тромбоцитами плазмы крови проводили по общепринятой методике.

Исследование системы гемостаза предусматривало оценку количества тромбоцитов в венозной крови на гематологическом анализаторе Drew-3 (Drew Scientific Inc., Великобритания-США) и их агрегационной функции с помощью агрегометра Chronolog 490-2D (CHRONO-LOG Corporation, США) при использовании аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации 10 мкМ, определение концентрации фибриногена на коагулометре Thrombostat 2 (Behnk Elektronik, Германия) наборами реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия), а также уровня D-димера при помощи

анализатора-рефлектометра Nycocard Rader II (Axis-Shield PoC AS, Норвегия) и тест-системы Nycocard[®] D-Dimer (Axis-Shield PoC AS, Норвегия).

Для оценки генерации тромбина использовали метод калиброванной автоматизированной тромбографии по Н.С. Hemker (2003) с применением планшетного флюориметра Fluoroskan Ascent (ThermoFisher SCIENTIFIC, Финляндия) с программным обеспечением Thrombinoscope[™] 3.0.0.26 и наборов реагентов фирмы Thrombinoscope[®] bv (Нидерланды) (PPP-Reagent, Thrombin Calibrator, FluCa-Kit) с тканевым фактором в концентрации 5,0 пМ. Учитывали следующие показатели теста: Lagtime — время инициации образования тромбина; ETP — эндогенный тромбиновый потенциал; Peak thrombin — пиковая концентрация тромбина; ttPeak — время достижения пиковой концентрации тромбина; V — скорость образования тромбина.

Проводили тромбоэластометрию стабилизированной цитратом натрия крови на тромбоэластометре ROTEM[®] Gamma (Pentapharm GmbH, Германия) с реагентом Startem в режиме Natem. Определяли следующие показатели: CT — время начала коагуляции; CFT — время формирования сгустка; угол α — амплитуда сгустка; MCF — максимальная твёрдость сгустка; A10 — амплитуда сгустка через 10 мин.

После остановки кровотечения для гистологического исследования у животных забирали ткань печени, включая всю раневую часть и фрагмент неповреждённой 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 (Sakkura, Япония). Парафинизацию проводили при помощи станции парафиновой заливки TISSUE-TEK TEC 5 (Sakkura, Япония).

Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм получали с использованием полуавтоматического роторного микротомы Accu-Cut SRM (Sakkura, Япония), препараты окрашивали гематоксилином и эозином в автомате для автоматической окраски микропрепаратов TISSUE-TEK Prisma (Sakkura, Япония) и заключали под плёнку в автомате для автоматического заключения микропрепаратов TISSUE-TEK Film (Sakkura, Япония).

Для определения морфологической структуры фибрина в тканях окраску подготовленных срезов проводили методом ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой) по

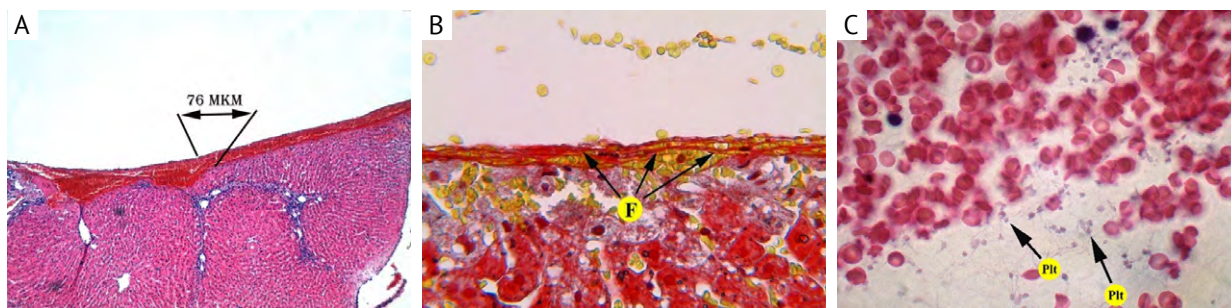


Рис. 2. Пример морфологической картины в области раны печени кролика первой группы (плацебо). А — тромботические отложения, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$; В — нити фибрина в тромботических отложениях (показаны стрелками, F — фибрин), окраска на фибрин по ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой), увеличение $\times 400$; С — тромбоциты в просвете крупных сосудов в области раны (показаны стрелками, Plt — тромбоциты), окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1000$

Д.Д. Зербино и Л.Л. Лукаевич [16] с применением набора реагентов для определения возраста фибрина (ООО «БВС», Россия).

Подсчёт 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. Микрофотографирование проводили при помощи микроскопа Leica DM 750 E200 с цифровой видеокамерой Leica EC3 (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия). Морфометрические измерения проводили с помощью лицензионного пакета морфометрических программ «ВидеоТест — Морфология 5.2» (фирма «ВидеоТест», Россия).

Животных выводили из опыта путём передозировки средства для наркоза.

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. Различия уровня летальности животных в группах устанавливали с помощью точного критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработку экспериментальных данных проводили с использованием статистической программы MedCalc Version 17.9.7 (лицензия BU556-P12YT-BBS55-YAH5M-UBE51). Полученные данные представлены в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (Q): Me [Q25÷Q75].

Результаты. В целях оценки морфологической картины после применения средств, обладающих системным гемостатическим действием (ТК и ФМ), были исследованы срезы раневой поверхности печени, полученные непосредственно после спонтанной остановки раневого кровотечения.

Ранее нами были описаны морфологические изменения в области травмы печени у животных без фармакологического воздействия на систему гемостаза [17]. В настоящей работе эти данные легли в основу формирования первой группы (контрольной), где животные получали лишь плацебо. Как было отмечено ранее, тромботические образования на раневой поверхности в данной группе определялись в виде тонких наложений розовой окраски с гладкой поверхностью (рис. 2, А), толщиной около 66 мкм (табл. 1). Состав этих наложений был представлен преимущественно редко анастомозирующими тонкими волокнистыми нитями фибрина, расположенными параллельно раневой поверхности (показаны стрелками на рис. 2, В). Кроме того, между нитями фибрина зарегистрировано включение неизменённых эритроцитов, что в целом стало предпосылкой для отнесения таких тромботических образований к тромбам смешанного вида (фибрино-эритроцитарным) [16]. Дополнительно проводили подсчёт количества тромбоцитов в просвете крупных сосудов (показаны стрелками на рис. 2, С), количество которых составило около 73 клеток в поле зрения (см. табл. 1).

В группе животных с фармакологическим подавлением функции тромбоцитов, получивших плацебо (вторая группа), в области травмы найдены менее заметные тонкие, гладкие, розоватого цвета тромботические массы (рис. 3, А), толщина которых составляла около 48 мкм (см. табл. 1). Эти массы состояли из тонких нитей фибрина розового цвета (отражено стрелками на рис. 3, В), которые располагались преимущественно параллельно раневой поверхности печени, с редкими анастомозами между нитями. При этом толщина волокон фибрина увеличилась в 1,6 раза (в сравнении с первой группой, см. табл. 1). Кроме того, в тромботических массах найдено небольшое количество неизменённых эритроцитов.

Таблица 1. Показатели морфометрического исследования гистологических препаратов раны печени

Показатели	Первая группа. После введения плацебо	Вторая группа. После введения антиагрегантов и плацебо	Третья группа. После введения антиагрегантов и ТК	Четвёртая группа. После введения антиагрегантов и ФМ
Толщина тромботических масс, мкм	66,2 [62,7–83,5]	48,8 [38,7–65,6] $p_{1-2}=0,002; \Delta \times 1,6$	140,5 [132,6–170,8] $p_{1-3}=0,00004; \Delta \times 2,1$ $p_{2-3}<0,000001; \Delta \times 2,9$	297,6 [279,4–314,2] $p_{1-4}=0,000001; \Delta \times 4,5$ $p_{2-4}<0,000001; \Delta \times 6,1$ $p_{3-4}<0,000001; \Delta \times 2,1$
Толщина нитей фибрина, мкм	0,83 [0,72–0,93]	1,34 [1,18–1,45] $p_{1-2}=0,003; \Delta \times 1,6$	2,24 [1,61–2,80] $p_{1-3}<0,000001; \Delta \times 2,7$ $p_{2-3}=0,00001; \Delta \times 1,7$	3,44 [2,52–3,90] $p_{1-4}<0,000001; \Delta \times 4,1$ $p_{2-4}<0,000001; \Delta \times 2,6$ $p_{3-4}=0,000007; \Delta \times 1,5$
Количество тромбоцитов, число/п.з.	73,5 [61,0–90,8]	55,0 [50,8–60,0] $p_{1-2}=0,016; \Delta \times 1,3$	84,0 [82,0–89,5] $p_{1-3}=0,091$ $p_{2-3}=0,0003; \Delta \times 1,5$	150,0 [113,5–201,0] $p_{1-4}=0,005; \Delta \times 2,0$ $p_{2-4}=0,001; \Delta \times 2,7$ $p_{3-4}=0,029; \Delta \times 1,8$

Примечание: p — уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей; п.з. — поле зрения; ТК — транексамовая кислота; ФМ — фибрин-мономер; Δ — разница показателей.



Рис. 3. Пример морфологической картины в области раны печени кролика второй группы (антиагреганты и плацебо). А — тромботические отложения, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$; В — нити фибрина в тромботических отложениях (показаны стрелками, F — фибрин), окраска на фибрин по ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой), увеличение $\times 400$; С — тромбоциты в просвете крупных сосудов в области раны (показаны стрелками, Plt — тромбоциты), окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1000$

В целом особенности тромботических отложений во второй группе позволили отнести их, как и в первой группе, к смешанному виду тромба (фибрино-эритроцитарному).

При подсчёте тромбоцитов в просвете крупных сосудов (показаны стрелками на рис. 3, С) их количество было в 1,3 раза меньше, чем в первой группе, оно составило около 55 клеток в поле зрения (см. табл. 1).

В группе животных, получивших ТК (третья группа), толщина тромботических отложений была сравнительно больше (рис. 4, А), чем в первой и второй группах (соответственно в 2,1 и 2,9 раза, см. табл. 1), и составила около 140 мкм. Тромботическая масса имела буроватый цвет и бугристую поверхность, состояла из большого количества преимущественно гемолизированных эритроцитов и нитей фибрина (показаны стрелками на рис. 4, В). Последние были утолщены, проходили преимущественно параллельно раневой поверхности печени в раз-

личных направлениях и с формированием незначительного количества анастомозов.

Это в целом позволило отнести связанные с травмой тромботические массы в третьей группе так же, как и в описанных выше группах, к тромбам смешанного вида. Отметим также, что наряду с увеличением толщины тромботических масс найдено и увеличение толщины фибриновых нитей — в 1,7 раза в сравнении со второй группой (см. табл. 1).

В просветах крупных сосудов, отмечено большее количество тромбоцитов (показаны стрелками на рис. 4, С) в сравнении со второй группой, при подсчёте их количество составило около 84 клеток в поле зрения (см. табл. 1).

У животных, получивших ФМ (четвёртая группа), в области травмы определялись максимально выраженные в сравнении с другими группами наблюдений (рис. 5, А) бугристые, бурого цвета тромботические отложения, их толщина составила около 297 мкм (см. табл. 1).

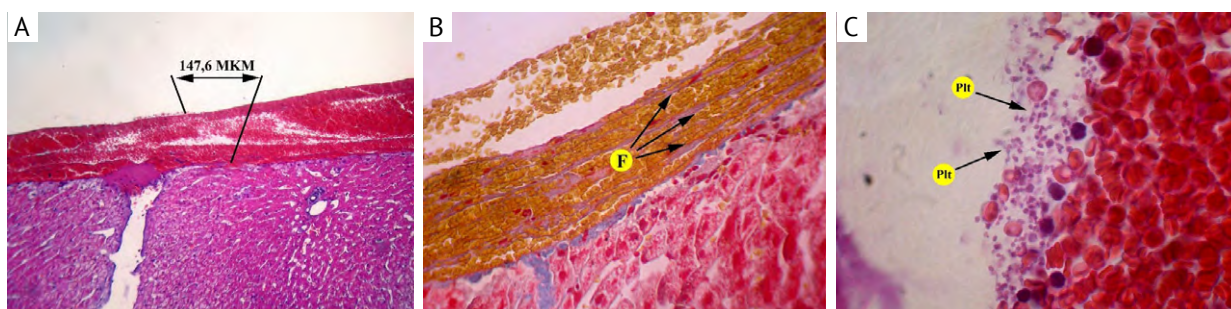


Рис. 4. Пример морфологической картины в области раны печени кролика третьей группы (антиагреганты и транексамовая кислота). А — тромботические отложения, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$; В — нити фибрина в тромботических отложениях (показаны стрелками, F — фибрин), окраска на фибрин по ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой), увеличение $\times 400$; С — тромбоциты в просвете крупных сосудов в области раны (показаны стрелками, Plt — тромбоциты), окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1000$

Тромботические массы состояли из большого количества гемолизированных эритроцитов и толстых грубых нитей фибрина, которые проходили преимущественно параллельно раневой поверхности и образовывали значительное количество анастомозов (показаны стрелками на рис. 5, В). Отмечено увеличение толщины фибриновых нитей в сравнении с первой, второй и третьей группами — соответственно в 4,5, 6,1 и 2,1 раза (см. табл. 1).

Данная морфологическая картина, так же как и в предыдущих группах, дала возможность отнести тромботические образования в области раны к тромбам смешанного вида.

В исследованных препаратах количество тромбоцитов в просветах крупных сосудов (показаны стрелками на рис. 5, С) было максимальным по сравнению с другими группами и составило около 150 клеток в поле зрения (см. табл. 1).

Выявленные межгрупповые различия по морфологической картине ткани печени в области раневой поверхности сочетались с изменениями показателей системы гемостаза в венозной крови и её плазме. Соответствующие результаты, полученные в группах наблюдений, представлены в табл. 2.

Можно видеть, что применение двойной антиагрегантной терапии приводило к ожидаемому снижению агрегации тромбоцитов (АДФ-индуцированной) во второй, третьей и четвёртой группах в 4,5, 3,0 и 16,6 раза соответственно. Данные наблюдения во второй и четвёртой группах сопровождались также снижением как хронометрических (СТ, СФТ), так и плотностных показателей при образовании сгустка (угол α , MCF и A10) в процессе проведения тромбоэластометрии крови, что, однако, не было характерно для третьей группы, где в качестве гемостатического препарата применяли ТК. В этой же группе было отме-

чено 10-кратное увеличение уровня D-димера, что не вполне объяснимо, поскольку усиления генерации тромбина по тесту калиброванной тромбографии в плазме венозной крови выявлено не было во всех проведённых экспериментах.

Обсуждение. По результатам проведённого исследования во второй группе животных, получивших антиагрегантные препараты, была отмечена повышенная кровопотеря (на 40% в сравнении с первой группой, $p=0,040$) в сочетании с высокой летальностью животных (53,9%; табл. 3), что было вполне ожидаемо в связи со снижением агрегационной функции тромбоцитов (в 4,5 раза) и ряда показателей тромбоэластометрии (см. табл. 2). Морфологическая картина в области нанесения травмы — формирование небольших тромботических масс, состоящих из нитей фибрина и неизменённых эритроцитов, со сниженным количеством тромбоцитов в просветах крупных сосудов рядом с травмой. В данном случае она соответствовала приросту кровопотери.

В случае использования ТК, одно из клинических показаний к применению которой — кровоточивость при тромбоцитопатии/тромбоцитопении [18], несмотря на фармакологически обусловленное подавление функции тромбоцитов, найдено снижение посттравматической кровопотери как по объёму (в 2,5 раза — с 14,1 до 5,7%; $p=0,005$), так и по темпу (в 2,7 раза — с 16,4 до 6,2 мг/с; $p=0,006$) в сравнении со второй группой. Исходя из данных морфологического исследования печени, последнее, по всей видимости, обеспечивалось увеличением толщины как тромботических отложений, так и самих нитей фибрина на раневой поверхности.

Интересно, что введение ТК и уменьшение кровопотери у таких животных сопровождались близкими к исходным (нормальным) показателям тромбоэластометрии. Вероятно, в этом

Таблица 2. Результаты оценки системы гемостаза в группах экспериментальных животных

Показатели	Первая группа		Вторая группа		Третья группа		Четвёртая группа	
	До введения плацебо (1а)	После введения плацебо (1б)	До введения антиагрегантов и плацебо (2а)	После введения антиагрегантов и плацебо (2б)	До введения антиагрегантов и ТК (3а)	После введения антиагрегантов и ТК (3б)	До введения антиагрегантов и ФМ (4а)	После введения антиагрегантов и ФМ (4б)
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	477,5 [405,8–621,5]	480,5 [412,3–555,0] $P_{1a-1b}=0,151$	438,0 [419,0–484,0]	452,0 [435,0–501,0] $P_{2a-2b}=0,136$	433,5 [373,0–532,0]	427,5 [356,3–491,0] $P_{3a-3b}=0,189$	468,0 [419,0–498,0]	426,0 [408,0–467,0] $P_{4a-4b}=0,458$
	20,5 [19,0–28,7]	22,0 [19,2–31,4] $P_{1a-1b}=0,598$	20,1 [18,4–45,9]	4,5 [0,6–7,0] $P_{2a-2b}=0,001$; $\Delta_{2a-2b} \times 4,5$	24,0 [19,0–46,5]	8,0 [4,9–10,1] $P_{3a-3b}=0,000001$; $\Delta_{3a-3b} \times 3,0$	19,9 [13,3–20,1]	1,2 [1,0–2,0] $P_{4a-4b}=0,001$; $\Delta_{4a-4b} \times 16,6$
Фибриноген, г/л	3,3 [2,8–4,4]	3,7 [2,8–4,5] $P_{1a-1b}=0,811$	3,3 [3,0–3,5]	3,4 [3,2–3,8] $P_{2a-2b}=0,758$	3,5 [2,9–3,9]	3,2 [3,0–3,8] $P_{3a-3b}=0,753$	3,5 [3,2–4,1]	3,4 [3,0–4,1] $P_{4a-4b}=0,872$
	100,0 [100,0–100,0]	100,0 [100,0–200,0] $P_{1a-1b}=0,201$	100,0 [100,0–175,0]	100,0 [100,0–200,0]	300,0 [200,0–400,0]	1000,0 [525,0–1350,0] $P_{3a-3b}=0,010$; $\Delta_{3a-3b} \times 3,3$	150,0 [100,0–275,0]	175,0 [100,0–300,0] $P_{4a-4b}=0,463$
Тромбограмма (калиброванная тромбография)								
Lagtime, мин	2,2 [2,0–2,7]	2,0 [1,8–2,7] $P_{1a-1b}=0,068$	2,7 [2,7–3,0]	2,7 [2,7–3,0] $P_{2a-2b}=0,999$	3,3 [3,3–3,6]	3,4 [3,3–3,8] $P_{3a-3b}=0,285$	2,4 [2,3–2,5]	2,6 [2,5–2,8] $P_{4a-4b}=0,109$
	373,9 [338,7–500,4]	484,8 [360,6–622,5] $P_{1a-1b}=0,224$	333,5 [307,7–453,0]	418,0 [307,7–422,2] $P_{2a-2b}=0,988$	337,1 [288,0–406,1]	362,6 [335,3–396,5] $P_{3a-3b}=0,999$	427,2 [406,7–481,4]	412,5 [362,4–461,8] $P_{4a-4b}=0,068$
Peak thrombin, нмоль/л	76,2 [40,7–90,9]	81,7 [34,3–138,8] $P_{1a-1b}=0,128$	55,2 [43,5–85,5]	56,5 [51,8–73,6] $P_{2a-2b}=0,348$	38,8 [27,5–57,6]	50,2 [42,2–57,7] $P_{3a-3b}=0,465$	77,9 [68,3–93,0]	70,4 [55,1–86,8] $P_{4a-4b}=0,144$
	5,8 [5,0–7,3]	5,4 [4,6–6,3] $P_{1a-1b}=0,143$	6,7 [5,7–6,7]	6,3 [6,0–7,3] $P_{2a-2b}=0,138$	8,1 [7,4–8,6]	8,4 [7,7–9,0] $P_{3a-3b}=0,109$	5,8 [5,6–6,4]	6,2 [5,5–7,5] $P_{4a-4b}=0,285$
V, нмоль/мин	25,3 [9,2–29,1]	26,8 [7,8–62,2] $P_{1a-1b}=0,102$	18,4 [11,4–28,8]	12,9 [9,6–23,2] $P_{2a-2b}=0,117$	20,7 [18,0–22,2]	19,4 [16,5–23,7] $P_{3a-3b}=0,999$	22,7 [21,7–28,1]	20,4 [13,7–28,9] $P_{4a-4b}=0,144$

Показатели тромбоэластографии									
СТ, с	605,5 [453,8-801,5]	628,0 [479,0-856,0]	508,0 [391,0-892,5]	642,0 [140,0-1190,0], в 2 случаях н.с.	673,0 [484,5-784,0]	587,0 [386,0-854,0]	431,5 [246,0-962,8]	828,0 [452,5-1154,0]	P_{4a-46} =0,221 $\Delta_{4a-46} \times 1,6$
		P_{1a-16} =0,821		P_{2a-26} =0,616		P_{3a-36} =0,384		P_{4a-46} =0,029; $\Delta_{4a-46} \times 1,7$	
Угол α , градусы	57,0 [46,5-62,0]	55,0 [49,0-65,0]	70,0 [50,0-78,0]	62,0 [44,0-73,0], в 2 случаях н.с.	54,0 [45,0-64,5]	58,0 [43,0-61,0]	72,0 [45,8-76,8]	46,0 [39,5-64,0]	P_{4a-46} =0,017; $\Delta_{4a-46} \times 1,6$
		P_{1a-16} =0,207		P_{2a-26} =0,813		P_{3a-36} =0,902			
CFT, с	182,5 [148,8-269,3]	206,0 [146,0-254,0]	152,5 [112,5-326,3]	233,0 [116,0-315,0], в 2 случаях н.с.	217,0 [152,0-298,0]	238,0 [183,3-336,8]	166,5 [111,0-273,5]	276,0 [147,8-346,5]	P_{4a-46} =0,029; $\Delta_{4a-46} \times 1,7$
		P_{1a-16} =0,288		P_{2a-26} =0,999		P_{3a-36} =0,267			
MCF, мм	59,5 [56,0-64,3]	58,0 [54,0-64,0]	54,0 [51,5-65,0]	50,0 [46,0-61,0], в 2 случаях н.с.	61,0 [55,0-70,0]	64,0 [58,0-71,0]	63,0 [58,0-66,3]	54,5 [50,5-62,3]	P_{4a-46} =0,079
		P_{1a-16} =0,956		P_{2a-26} =0,156		P_{3a-36} =0,342			
A10, мм	44,0 [40,8-52,5]	43,0 [39,0-50,0]	42,0 [34,0-64,5]	39,0 [35,0-52,0], в 2 случаях н.с.	46,0 [37,0-56,5]	48,0 [35,0-56,5]	56,0 [41,5-60,0]	40,5 [34,8-49,0]	P_{4a-46} =0,041; $\Delta_{4a-46} \times 1,4$
		P_{1a-16} =0,422		P_{2a-26} =0,240		P_{3a-36} =0,925			

Примечание: p — уровень статистической значимости различных сравниваемых показателей; ТК — транексамовая кислота; ФМ — фибрин-мономер; А/ДФ — аденозин-дифосфат; н.с. — нет свёртывания; Δ — разница показателей; показатели калиброванной тромбографии: Lagtime — время инициации образования тромбина; ЕТР — эндотенный тромбиновый потенциал; Peak thrombin — пиковая концентрация тромбина; ttPeak — время достижения пиковой концентрации тромбина; V — скорость образования тромбина; показатели тромбоэластографии: CT — время начала коагуляции; CFT — время формирования сгустка; угол α — амплитуда сгустка; MCF — максимальная твёрдость сгустка; A10 — амплитуда сгустка через 10 мин.



Рис. 5. Пример морфологической картины в области раны печени кролика четвертой группы (антиагреганты и фибрин-мономер). А — тромботические отложения, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$; В — нити фибрина в тромботических отложениях (показаны стрелками, F — фибрин), окраска на фибрин по ОКГ (оранжевый Ж, кислотный красный 2С и водный голубой), увеличение $\times 400$; С — тромбоциты в просвете крупных сосудов в области раны (показаны стрелками, Plt — тромбоциты), окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1000$

Таблица 3. Показатели посттравматической кровопотери в группах экспериментальных животных

Показатели	Первая группа. После введения плацебо	Вторая группа. После введения анти- агрегантов и плацебо	Третья группа. После введения анти- агрегантов и ТК	Четвёртая группа. После введения анти- агрегантов и ФМ
Объём кровопотери, % объёма циркулирующей крови	10,1 [4,3÷16,3]	14,1 [12,0÷18,8] $p_{1-2}=0,040, \Delta \times 1,4$	5,7 [2,8÷11,3] $p_{1-3}=0,189$ $p_{2-3}=0,005; \Delta \times 2,5$	2,1 [1,8÷5,4] $p_{1-4}=0,008; \Delta \times 4,8$ $p_{2-4}=0,00002; \Delta \times 6,7$ $p_{3-4}=0,058$
Темп кровопотери, мл/с	25,7 [7,1÷36,5]	16,4 [10,8÷33,7] $p_{1-2}=0,685$	6,2 [4,5÷8,6] $p_{1-3}=0,012; \Delta \times 4,1$ $p_{2-3}=0,006; \Delta \times 2,7$	7,0 [4,5÷8,2] $p_{1-4}=0,032; \Delta \times 3,7$ $p_{2-4}=0,002; \Delta \times 2,3$ $p_{3-4}=0,959$
Летальность, количество особей	0 (0%) из 21	7 (53,9%) из 13 $p_{1-2}=0,0003$	4 (20%) из 22 $p_{1-3}=0,108$ $p_{2-3}=0,057$	0 (0%) из 13 $p_{1-4}=0,400$ $p_{2-4}=0,005$ $p_{3-4}=0,274$

Примечания: p — уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей; ТК — транексамовая кислота; ФМ — фибрин-мономер; Δ — разница показателей.

случае мы имеем дело с изменением гемостатического равновесия в сторону тромбообразования — вследствие уменьшения интенсивности плазмин-зависимого фибринолиза. В качестве косвенного доказательства данного положения можно принять многократное увеличение уровня D-димера, происхождение которого, возможно, связано с неплазминовым механизмом фибринолиза, обусловленным эластазой и катепсином G. Последние, как было показано ранее, способны самостоятельно разрушать фибрин, усиливая действие плазмина [19, 20].

К новым знаниям, на наш взгляд, в настоящей статье относится феномен локального массивного тромбообразования в ране под действием ФМ, введённого внутривенно в дозе 0,25 мг/кг. Данная закономерность приводила к сверхкомпенсированному снижению объёма и темпа кровопотери (по объёму кровопотери — с 14,1 до 2,1% в сравнении со второй группой; $p=0,00002$). Следствием последнего стало

отсутствие летальных исходов на протяжении эксперимента. При микроскопии тромботические массы, как и в других группах наблюдений, имели смешанный характер (фибрино-эритроцитарный тип), с гемолизированными эритроцитами, однако, помимо утолщения этих масс, у животных, получивших ФМ, найдено относительно большее увеличение толщины фибриновых нитей, богатых анастомозами.

Ещё одной закономерностью было сохранение в просветах крупных сосудов сравнительно большого количества тромбоцитов, что свидетельствует, вероятно, в пользу их низкой «заинтересованности» в идущих процессах тромбообразования в ране. К этому можно добавить тот факт, что интенсивное тромбообразование при использовании экзогенного ФМ происходило на фоне сравнительно наименьшей активности (по измерению АДФ-агрегации и показателям тромбоэластометрии) тромбоцитов в венозном кровотоке.

Недостатком настоящей работы видится то обстоятельство, что мы не смогли убедительно объяснить ряд фактов (увеличение количества D-димера на фоне действия ТК и его образование без усиления генерации тромбина в соответствующей группе животных), однако объективным остаётся установленный факт локального гемостатического действия ФМ при его системном введении, в том числе на фоне снижения коагуляционного потенциала.

ВЫВОД

Морфологические особенности прираневого гемостатического эффекта транексамовой кислоты и низкодозированного фибрин-мономера имеют ряд различий, несмотря на близость достигаемых результатов по минимизации кровопотери (в условиях фармакологически обусловленного подавления функции тромбоцитов).

Участие авторов. В.М.В., А.П.М. и И.И.Ш. — разработка концепции и дизайна, постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации; Д.А.О., И.П.Б., В.В.Т., В.Е.Ч. и Д.В.К. — постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ на реализацию научного проекта №18-415-220001 конкурса р_а — Конкурс проектов 2018 года фундаментальных научных исследований; поддержке ООО «Технология-Стандарт» (г. Барнаул) и ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Барнаул).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

- Hoffman M., Monroe D.M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 2007; 21 (1): 1–11. DOI: 10.1016/j.hoc.2006.11.004.
- Ho K.M., Pavey W. Applying the cell-based coagulation model in the management of critical bleeding. *Anaesth. Intens. Care.* 2017; 45 (2): 166–176. DOI: 10.1177/0310057X1704500206.
- Кузник Б.И. *Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии.* Чита: Экспресс-издательство. 2010; 832 с. [Kuznik B.I. *Kletochnye i molekulyarnye mehanizmy reguljacji sistemy gemostaza v norme i patologii.* (Cellular and molecular regulation mechanisms of hemostasis system in health and disease.) Chita: Ehkspress-izdatel'stvo. 2010; 832 p. (In Russ.)]
- Кузник Б.И., Стуров В.Г., Левшин Н.Ю., Максимова О.Г., Кудлай Д.А. *Геморрагические и тромботические заболевания у детей и подростков.* Ново-

сибирск: Наука. 2018; 524 с. [Kuznik B.I., Sturov V.G., Levshin N.Ju., Kudlaj D.A. *Gemorragicheskie i tromboticheskie zabolevaniya u detej i podrostkov.* (Hemorrhagic and thrombotic diseases in childhood and adolescence.) Novosibirsk: Nauka. 2018; 524 p. (In Russ.)]

5. Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataulakhov F.I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb. Res.* 2015; 136 (4): 699–711. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.07.025.

6. Hoffman M.M., Monroe D.M. Rethinking the coagulation cascade. *Curr. Hematol. Rep.* 2005; 4 (5): 391–396. PMID: 16131441.

7. 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 науч. мед. ж.* 2019; 39 (1): 6–12. [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 experiment with dosed liver therapy. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal.* 2019; 39 (1): 6–12. (In Russ.)] DOI: 10.15372/SSMJ20190101.

8. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстокоров И.Г., Шевченко В.О., Красюкова В.О., Шахматов И.И., Лычёва Н.А., Белозерская Г.Г. Время-зависимые системные гемостатические эффекты фибрина-мономера при дозированной травме печени в эксперименте. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (2): 257–263. [Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Shevchenko V.O., Krasjukova V.O., Shakhmatov I.I., Lycheva N.A., Belozerskaya G.G. Time-dependent systemic hemostatic effects of fibrin monomer in controlled liver injury in the experiment. *Kazan Medical Journal.* 2019; 100 (2): 257–263. (In Russ.)] DOI: 10.17816/KMJ2019-257.

9. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстокоров И.Г., Лычёва Н.А., Шевченко В.О., Шахматов И.И., Красюкова В.О., Фогт Э.В. Системные гемостатические эффекты фибрина-мономера при ингибировании агрегационной функции тромбоцитов в эксперименте. *Бюлл. сибирской мед.* 2020; 19 (1): 36–42. [Vdovin V.M., Momot A.P., Orekhov D.A., Tolstokorov I.G., Lycheva N.A., Shevchenko V.O., Shakhmatov I.I., Krasjukova V.O., Fogt E.V. Experimental study of systemic hemostatic effects of fibrin monomer in inhibition of platelet aggregation function. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2020; 19 (1): 36–42. (In Russ.)] DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-36-42.

10. Hunt B.J. The current place of tranexamic acid in the management of bleeding. *Anaesthesia.* 2015; 70 (Suppl. 1): 50–53. DOI: 10.1111/anae.12910.

11. Ramirez R.J., Spinella P.C., Bochicchio G.V. Tranexamic acid update in trauma. *Crit. Care Clin.* 2017; 33 (1): 85–99. DOI: 10.1016/j.ccc.2016.08.004.

12. Kyoung-Jin P., Eui-Hoon K., Hee-Jin K., Sun-Hee K. Evaluation of the diagnostic performance of fibrin monomer in disseminated intravascular coagulation. *Korean J. Lab. Med.* 2011; 31 (3): 143–147. DOI: 10.3343/kjlm.2011.31.3.143.

13. Момот А.П., Вдовин В.М., Орехов Д.А., Бобров И.П., Шахматов И.И., Момот Д.А., Белозерская Г.Г., Кузнецова Д.В., Чернущев В.Е., Теряев В.В. Влияние экзогенного фибрина-мономера на гемостатический потенциал и фибринообразование в об-

ласти дозированной травмы печени на фоне введения гепарина в эксперименте. *Патогенез*. 2020; 18 (4): 32–42. [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., Teryuayev V.V. Effect of exogenous fibrin monomer on hemostatic potential and fibrin formation in the area of controlled liver injury on the background of heparin administration in the experiment. *Pathogenez*. 2020; 18 (4): 32–42. (In Russ.)] DOI: 10.25557/2310-0435.2020.04.32-42.

14. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К. 2012; 472–473. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvenih sredstv*. Chast' pervaya. (Guidelines for pre-clinical drug trial. Part 1.) Ed. by A.N. Mironova. M.: Grif and K. 2012; 472–473. (In Russ.)]

15. Зиганшин А.У. Новые антиагреганты — блокаторы тромбоцитарных P₂-рецепторов. *Казанский мед. ж.* 2010; 91 (1): 73–79. [Ziganshin A.U. New antiaggregants — blockers of platelet P₂-receptors. *Kazan Medical Journal*. 2010; 91 (1): 73–79. (In Russ.)]

16. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. *Диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови: факты и концепции*. М.: Медицина. 1989; 256 с. [Zerbino D.D., Lukasevich L.L. *Disseminirovannoe vnutrisosudistoe svertvyvanie krovi: fakty i koncepcii*. (Disseminated intravascular coagulation: facts and concepts.) M.: Meditsina. 1989; 256 p. (In Russ.)]

17. Вдовин В.М., Бобров И.П., Шахматов И.И., Момот А.П. Морфологические последствия системного применения фибрин-мономера в условиях подавления гемостатического и усиления фибринолитического потенциалов при дозированной травме печени в эксперименте. *Бюлл. мед. науки*. 2021; (1): 74–87. [Vdovin V.M., Bobrov I.P., Shakhmatov I.I., Momot A.P. Morphological consequences of systemic application of fibrin monomer in conditions of hemostatic potential suppression and fibrinolytic potential amplification in dosed liver injury in experiment. *Vyulleten' meditsinskoj nauki*. 2021; (1): 74–87. (In Russ.)]

18. *Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система)*. Под ред. А.Г. Чучалина, А.Л. Хохлова. Выпуск XVIII. М.: Видокс. 2017; 471–790. [*Federal'noe rukovodstvo po ispol'zovaniju lekarstvennyh sredstv (formuljarnaja sistema)*. (Federal guidelines on the use of medicines (formulary system.) Ed. by A.G. Chuchalin, A.L. Hohlov. Vol. XVIII. M.: Vidoks. 2017; 471–790. (In Russ.)]

19. Adams S.A., Kelly S.L., Kirsch R.E., Robson S.C., Shephard E.G. Role of neutrophil membrane proteases in fibrin degradation. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 1995; 6: 693–702. DOI: 10.1097/00001721-199512000-00001.

20. Bach-Gansmo E.T., Halvorsen S., Godal H.C., Skjonsberg O.H. D-dimers are degraded by human neutrophil elastase. *Thromb. Res*. 1996; 82 (2): 177–186. DOI: 10.1016/0049-3848(96)00064-3.